Aus dem Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

und dem Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Bernhard Schmidt

DAS ANTIMYZETISCHE PRINZIP IN PIPER METHYSTICUM FORSTER

Ein Beitrag zur
ethnopharmakologischen Forschung an Kawa-Kawa

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
DIETRICH WEISS
aus Berlin

BERLIN 1968

1969

Aus dem Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel
und dem Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Bernhard Schmidt

DAS ANTIMYZETISCHE PRINZIP IN PIPER METHYSTICUM FORSTER

Ein Beitrag zur
ethnopharmakologischen Forschung an Kava-Kava

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
DIETRICH WEISS
aus Berlin

BERLIN 1966

Aus dem Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel
und dem Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Bernhard Schmidt

DAS ANTIMYZETISCHE PRINZIP IN PIPER METHYSTICUM FORSTER

Ein Beitrag zur
ethnopharmakologischen Forschung an Kawa-Kawa

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
DIETRICH WEISS
aus Berlin

BERLIN 1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. B. Schmidt

Tag der mündlichen Prüfung: 19. DEZ. 1968

Tag der Promotion: 17. FEB 1969

Meiner lieben Frau

und

meinen Eltern

gewidmet

Meiner lieben Frau

und

meinen Eltern

gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Hänsel und am Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. B. Schmidt durchgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Hänsel, möchte ich an dieser Stelle für seine wohlwollende Förderung, für die zahlreichen, wertvollen Ratschläge sowie für das große Interesse danken, das er meiner Arbeit entgegenbrachte.

Besonders danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. B. Schmidt, der meine Arbeit durch die Überlassung eines Arbeitsplatzes und des mikrobiologischen Untersuchungsmaterials ermöglichte und mich in großzügiger Weise unterstützte.

Herrn Dr. H. Rimpler, Wissenschaftlicher Oberassistent am Institut für Pharmakognosie und Herrn Dr. K. Walther, Wissenschaftlicher Assistent am gleichen Institut, bin ich für zahlreiche Hinweise und klärende Gespräche im Zusammenhang mit meiner Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Herzlich danken möchte ich auch:

Der Firma Spezialchemie GmbH & Co., München, vor allem den Herren Dr. H. Bräuer und Dipl.-Chem. H. Brinkhoff für die Überlassung von Substanzen zur Kawain-Synthese,

ferner der Firma Schering A.G., besonders den Herren Dipl.-Ing. J. Huber und Dr. B. Angermann, für die Ausführung von Mikroanalysen

und den Mitarbeitern des Institutes für Pharmakognosie und des Institutes für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, die sich stets um die Erfüllung meiner Wünsche bemühten.

Inhaltsverzeichnis

Seite

I Einleitung und Problemstellung 13

II Botanische Kennzeichnung der Pflanze 17

III Die Inhaltsstoffe des Kawarhizoms 19

IV Anwendung und Wirkung der Kawadroge 21
1. Ethnopharmakologische Angaben 21
2. Tierexperimentelle Untersuchungen 31
3. Gegenüberstellung von tierexperimentellen Befunden und ethnopharmakologischen Angaben 45
4. Bisherige Untersuchungen über antimikrobielle Eigenschaften des Kawarhizoms 48

V Eigene Untersuchungen 51

Hauptteil

1. Bakteriologische Versuche 52
1.1 Prüfung der Ganzdroge auf antibakterielle Wirkung 52
1.2 Prüfung der Reinstoffe auf antibakterielle Wirkung 55
2. Versuche mit Pilzen 57
2.1 Prüfung der Ganzdroge auf antimyzetische Wirkung 57
2.2 Prüfung der Reinstoffe auf antimyzetische Wirkung 62

Seite

2.3 Ausarbeitung einer neuen Testmethode zur Prüfung schwer wasserlöslicher Substanzen auf antimyzetische Wirkung 62
2.4 Beobachtungen über morphologische Veränderungen der Aspergillus niger - Kolonien 71
2.5 Beurteilung der antimyzetischen Drogenwirkung aufgrund der Einzeleffekte ihrer Inhaltsstoffe 74
2.5.1 Untersuchung des ätherischen Öls auf antimyzetische Wirkung 76
2.5.2 Untersuchung des hydrophilen Anteils der Kawadroge auf antifungale Wirkung 79
2.5.3 Untersuchung über Zusammenhänge zwischen der antimyzetischen Wirkung und dem Dispersitätsgrad der Kawainhaltsstoffe 79
2.5.4 Untersuchung der Kawapyrone auf mögliche gegenseitige Verstärkung ihrer antifungalen Wirkung 82
2.5.5 Prüfung einer dem Drogengehalt äquivalenten Zusammenstellung von Kawainhaltsstoffen auf pilzhemmende Wirkung 86
2.6 Bestimmung der antifungalen Wirkung: Fungizidie oder Fungistase? 89
2.7 Untersuchungen über die Strukturspezifität der antimyzetischen Wirkung von Kawapyronen 90

Seite

2.7.1 Prüfung verschiedener synthetischer und halbsynthetischer, kawapyron-ähnlicher Verbindungen 90
2.7.2 Prüfung DHK-ähnlicher Lactone mit verlängerter bzw. verkürzter C-Brücke zwischen Phenyl- und Pyronring 100
2.8 Synthese der unter 2.7.2 geprüften Substanzen 105
2.8.1 Substanz A 107
2.8.2 Substanz B 107
2.8.3 Substanz C 108
2.8.4 Substanz D 109
2.8.5 Spektrophotometrische Analyse der Substanzen A-D 109

Experimenteller Teil 123

1. Bakteriologische Versuche 124
1.1 Allgemeines 124
1.2 Prüfung der Ganzdroge 125
1.2.1 Lochplattentest 125
1.2.2 Andere Testmethoden 125
1.3 Prüfung der Reinstoffe 126
1.3.1 Papierblättchentest 126

2. Versuche mit Pilzen 126
2.1 Allgemeines 126
2.2 Prüfung der Ganzdroge 127
2.3 Prüfung der Reinsubstanzen 128
2.4 Beurteilung der antimyzetischen Drogenwirkung aufgrund der Einzeleffekte ihrer Inhaltsstoffe 129

Seite

2.4.1 Untersuchung des ätherischen Öls 129
2.4.1.1 Gewinnung des ätherischen Öls 129
2.4.1.2 Testung des ätherischen Öls 129
2.4.2 Untersuchung des hydrophilen Anteils der Kawadroge auf antifungale Wirkung 129
2.4.3 Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen der antifungalen Wirkung und dem Dispersitätsgrad der Kawainhaltsstoffe: Prüfung des lipophilen Extraktes auf pilzhemmende Eigenschaften 130
2.4.4 Untersuchung der Kawapyrone auf mögliche gegenseitige Verstärkung ihrer antimyzetischen Wirkung 130
2.4.5 Prüfung einer dem Drogengehalt äquivalenten Zusammenstellung von Kawainhaltsstoffen auf pilzhemmende Wirkung 130
2.5 Bestimmung der antifungalen Wirkung: Fungizidie oder Fungistase? 130
2.5.1 Suspensionsversuch 130
2.5.2 Rasenstückchenmethode 131
2.6 Untersuchungen über die Strukturspezifität der antimyzetischen Wirkung von Kawapyronen ... 131
2.6.1 Prüfung verschiedener synthetischer und halbsynthetischer, kawapyronähnlicher Verbindungen 131
2.6.2 Prüfung der Substanzen A-D 132
2.7 Tabellen mit den Werten der Pilzversuche 132
2.8 Synthesen der Substanzen A-D 152
2.8.1 Allgemeines 152
2.8.2 Synthese von A 153

Seite

2.8.3 Synthese von B 154
2.8.4 Synthese von C 157
2.8.5 Synthese von D 159

VI Diskussion 163

VII Zusammenfassung 171

VIII Literaturverzeichnis 173

IX Lebenslauf 181

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

In jüngster Zeit ist bei der Entwicklung neuer Arzneimittel eine deutliche Stagnation zu beobachten: Aus einer großen Zahl synthetisierter Substanzen erweist sich nur ein verschwindend kleiner Anteil als therapeutisch einsetzbar. Die an sich schon geringe Erfolgsquote vermindert sich überdies noch weiter, so daß fortlaufend mehr Syntheseprodukte nötig werden, um zu einer brauchbaren Verbindung zu gelangen. Das hängt mit der Tatsache zusammen, daß eine gezielte Arzneimittelsynthese wegen der noch immer mangelhaften Kenntnisse über die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und biologischer Wirkung bisher nicht möglich ist. Die stattdessen vielfach geübte Praxis, bewährte Verbindungstypen in vielfältigster Weise abzuwandeln, führte in der Folge dazu, daß die Variationsmöglichkeiten der wirksamen Stoffklassen jetzt weitgehend erschöpft sind, weshalb Substanzen mit grundsätzlich neuartiger Wirkung auf diesem Wege kaum noch gefunden werden.

In dieser Situation wendet man sich wieder mehr dem Ausgangspunkt der Arzneimittelforschung zu, nämlich der Pflanze und den Pflanzenstoffen, die ja zahlreiche Modelle für wichtige Therapeutika lieferten. Auf der Suche nach neuen Wirkprinzipien und Stoffklassen aus dem Pflanzenreich erscheint die Überprüfung volksheilkundlicher Erfahrungen naturgemäß aussichtsreicher als eine wahllose Untersuchung unzähliger Pflanzenarten. Daher wurden gerade in letzter Zeit verschiedene ethnopharmakologische Probleme erneut aufgegriffen. Zum Kreis der Pflanzen, die im Zuge phytochemisch-pharmakologischer Forschung intensiv untersucht werden, gehört auch Piper methysticum FORST., der Rauschpfeffer. Der Wurzelstock dieser Pflanze wurde in Polynesien zur Herstellung eines "betäubenden" Getränkes (="Kawa-Kawa") sowie auch zu arzneilichen Zwecken verwendet. Obwohl aus der Kawapflanze schon seit langem eine Reihe von Inhaltsstoffen be-

kannt ist, gelang es erst vor kurzem, einen großen Teil der beschriebenen Wirkungen einzelnen Reinsubstanzen zuzuordnen (HÄNSEL, 1959; MEYER, 1960-1966). Es sind vor allem die Phänomene, die mit einer zentralnervösen oder auch peripheren Dämpfung einhergehen: Sedation, Analgesie, Anaesthesie, Spasmolyse sowie antikonvulsive, antipyretische und antiphlogistische Effekte. Darüber hinaus wurde mit dem Nachweis markanter muskelrelaxierender Eigenschaften eine neue Stoffklasse zentraler Muskelrelaxantien entdeckt.

Einige andere Wirkungen des Kawarhizoms, wie tonisierende Effekte und besonders die in der ethnographischen Literatur immer wieder hervorgehobene Heilwirkung bei Infektionen der Haut und des Urogenitaltraktes, konnten dagegen bisher nicht aufgeklärt werden.

In der vorliegenden Arbeit wollten wir nun einen Beitrag zur Deutung des zuletzt genannten Fragenkomplexes liefern, nämlich zur Aufklärung der heilenden, antiinfektiösen Wirkung der Kawapflanze und ihrer Zubereitungen. Eine solche Wirkung, wie sie von LEWIN (1886), LECLERC (1937), TITCOMB (1948) und anderen beschrieben worden ist, könnte prinzipiell auf zweierlei Weise zustande kommen:
Einmal kausal durch Hemmung oder Abtötung der Erreger infolge des Gehaltes an antimikrobiellen Substanzen; zum anderen symptomatisch durch Behebung oder Linderung der Krankheitserscheinungen infolge des Gehaltes an analgetisch, anaesthetisch oder antiphlogistisch wirkenden Prinzipien. Solche symptomatisch wirkenden Prinzipien sind, wie wir seit den Arbeiten MEYERs wissen, in der Kawapflanze enthalten; daß auch antimikrobielle Substanzen darin vorkommen sollen, war zwar bisher angenommen worden (FLOREY, CHAIN et al., 1949), doch fehlten dafür eindeutige Beweise.
Da in den letzten Jahren in zahlreichen Pflanzenarten Hemmstoffe gegenüber Bakterien und Pilzen aufgefunden wurden, und zwar besonders häufig bei Pflanzen, die volksmedizinisch als Antiinfektiosa und Wundmittel gebraucht wurden (WINTER, 1952-1954), schien uns eine

entsprechende Untersuchung des Kawarhizoms lohnend. Dies um so mehr, als wir selbst bei phytochemischen Arbeiten an der Droge folgende Beobachtung machten: Wir stellten fest, daß wäßrige Auszüge des Kawarhizoms auch bei wochenlangem Stehen keine Schimmelpilzkolonien zeigten, während wäßrige Extrakte, die vorher mit Lipoidlösungsmitteln ausgeschüttelt worden waren, sehr rasch befallen wurden.

Wir schlossen daher auf das Vorhandensein von Substanzen im lipophilen Anteil des Kawaextraktes, die imstande sind, das Wachstum von Mikroorganismen, zumindest das von Schimmelpilzen, zu unterdrücken.

Unsere Annahme fanden wir weiterhin unterstützt durch die Tatsache, daß die Mehrzahl der aus Rhizoma Kawa-Kawa isolierten Inhaltsstoffe eine strukturelle Verwandtschaft zu Stoffen aufweist, von denen eine antibakterielle oder antimyzetische Wirkung bekannt ist. Der in den meisten Kawasubstanzen enthaltene α-Pyronring findet sich z. B. in der Dehydracetsäure wieder, die als Konservierungsstoff für Lebensmittel benutzt wird (KRAMLIK, 1958). Auch in der Alternarinsäure, einer Verbindung mit spezifischer Wirkung gegen Pilze (BRIAN et al., 1949), und in der Parasorbinsäure, die das Wachstum von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen hemmt (v. GUTTENBERG u. BEYTHIEN, 1951), liegen den Kawasubstanzen ähnliche α-Pyronstrukturen vor.

Alle bisher aufgeführten Tatsachen und Beobachtungen, volksheilkundlichen Berichte und Analogieschlüsse können jedoch nur als Hinweise für eine mögliche Aktivität der Kawadroge gegenüber Mikroorganismen gewertet werden. Wir wollten daher in eigenen Arbeiten endgültig klären, ob das Kawarhizom in vitro irgendeinen Einfluß auf das Wachstum von Bakterien oder Pilzen ausübt.
Mit diesem Vorhaben sind folgende Fragen verbunden, die durch unsere Untersuchungen beantwortet werden sollten:

1. Hat die Kawadroge eine experimentell reproduzierbare hemmende Wirkung auf das Wachstum von Mikroorganismen?
2. Falls das zutrifft: Handelt es sich um eine allgemein toxische Wirkung oder werden nur bestimmte Organismengruppen z. B. Bakterien, Hefen oder Schimmelpilze selektiv beeinträchtigt?
3. Ist eine solche Wirkung an die bisher bekannten, aus dem Kawarhizom isolierten Verbindungen gebunden oder muß sie bis jetzt noch unbekannten Substanzen zugeschrieben werden? (Im letzten Fall sollte mit dem mikrobiologischen Test als Leitfaden eine Auftrennung des Drogenextraktes möglich sein, die schließlich zur Isolierung und Identifizierung der wirksamen Verbindung führt).
4. Wenn mehrere antimikrobiell wirksame Substanzen gefunden werden: lassen sich dann Aussagen über eine Beziehung zwischen chemischer Konstitution und mikrobiologischer Wirkung machen? (Diese Frage sollte gegebenenfalls auch durch Untersuchung ähnlicher, synthetisierter Verbindungen beantwortet werden.)

II. BOTANISCHE KENNZEICHNUNG DER PFLANZE

Piper methysticum FORST., die Stammpflanze von Rhizoma Kawa-Kawa, gehört zur recht umfangreichen Familie der Piperaceae, deren Vertreter fast ausschließlich in den Tropen vorkommen. Besondere Schwerpunkte der Artverbreitung sind das indo-malayische Gebiet sowie Zentral- und Südamerika. Es sind bisher je nach Autor zwischen 1400 und 2000 Arten beschrieben worden, die in 10-12 Gattungen zusammengefaßt werden. Die beiden größten Gattungen sind Piper und Peperomia mit ca. 700 bzw. 600 Arten. (Näheres über die botanischen Merkmale und die Verbreitung der Familie s.b. TRELEASE u. YUNCKER, 1950 und bei ENGLER, 1964)

Piper methysticum FORST., der "Rauschpfeffer", ist ein Strauch, der 2-5 m Höhe erreichen kann und ein starkes Rhizom ausbildet. Die oberirdischen Teile bestehen aus kräftigen, verholzenden Stengeln, die nur spärlich verzweigt sind. An den auffallend verdickten Stengelknoten sitzen große, herzförmige Blätter. Die Pflanze ist diözisch, jedoch sollen heute nur männliche Exemplare bekannt sein, deren Blüten zu blattachselständigen Ähren zusammengefaßt sind. Die Vermehrung ist daher einzig auf vegetativem Wege durch Teilung des Wurzelstockes oder durch Stecklinge möglich.

Piper methysticum ist verbreitet auf den Inseln Melanesiens und Polynesiens, besonders auf Hawaii, den Fidji-, Samoa- und Tongainseln, wird aber auch an der Nordküste Neuguineas gefunden. Man nimmt an, daß die Pflanze in Polynesien nicht heimisch ist, sondern bei der Besiedlung der Inseln durch den Menschen mitgebracht worden ist. Die eigentliche Heimat von Piper methysticum ist nicht bekannt.

III. Die INHALTSSTOFFE DES KAWARHIZOMS

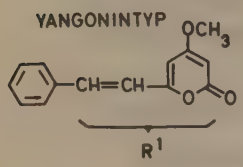
Aus dem Kawarhizom sind bis heute 11 charakteristische Inhaltsstoffe isoliert bzw. nachgewiesen worden.
Neun dieser Substanzen sind α-Pyrone, die in 6-Stellung eine Styryl- oder Phenyläthyl-Seitenkette tragen (s. Abb. 1). Sie unterscheiden sich im Vorhandensein oder Fehlen der Doppelbindungen zwischen den C-Atomen 5, 6 und 7, 8 und im Vorhandensein oder Fehlen von Substituenten am Phenylring.
Je nach Hydrierungsgrad kann man sie in 3 Typen unterteilen:

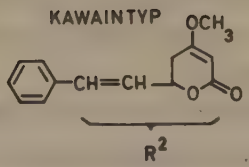
1. Yangonintyp (beide Doppelbindungen vorhanden),
2. Kawaintyp (Doppelbindung 5, 6 hydriert),
3. Dihydrokawaintyp (beide Doppelbindungen hydriert).

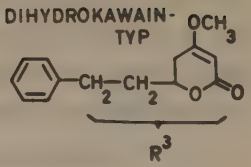
Variationen innerhalb jeder dieser Gruppen sind durch die Art der Substitution am Phenylring gegeben.
Außer den 9 Kawapyronen sind auch zwei Chalkone aus dem Kawarhizom bekannt (s. Abb. 1), die durch HÄNSEL u. Mitarbeiter im Jahre 1961 isoliert wurden.
Umfassende Zusammenstellungen über Chemie und Isolierung der Kawainhaltsstoffe geben HÄNSEL (1964), MORS u. MAGALHÃES (1962) und KLAPROTH (1966).

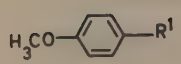
Abbildung 1: Bisher bekannte Kawainhaltsstoffe

a.) PYRONE

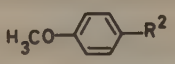




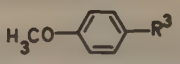




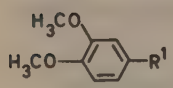
YANGONIN (Y)



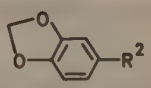
12-METHOXYKAWAIN (MK)



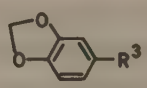
TETRAHYDROYANGONIN (THY)



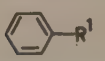
11-METHOXYYANGONIN (MOY)



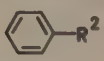
METHYSTICIN (M)



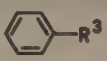
7,8-DIHYDROMETHYSTICIN (DHM)



DESMETHOXYYANGONIN (DMY)

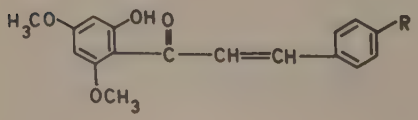


KAWAIN (K)



7,8-DIHYDROKAWAIN (DHK)

b.) CHALKONE



R= —OCH_3
FLAVOKAWAIN A

R= —OH
FLAWOKAWAIN B

IV. ANWENDUNG UND WIRKUNG DER KAWADROGE

1. Ethnopharmakologische Angaben

Der Kawatrank

Das Rhizom von Piper methysticum wurde von den Polynesiern zur Herstellung eines Getränkes benutzt, das sie bei religiös-rituellen Anlässen oder nach anstrengenden Arbeiten zu sich nahmen. Durch COOK (1784), der als erster Europäer nach Hawaii kam, und durch verschiedene spätere Besucher dieser Inseln wissen wir von der eigenartigen Zubereitungsweise des Kawatrankes: Kleinere Stücke der Droge wurden von ausgesuchten Mädchen oder Jungen zu einem Brei zerkaut, den sie anschließend in eine Schüssel entleerten. Die Masse wurde daraufhin mit Wasser verdünnt und ergab nach Abseihen der gröberen, festen Bestandteile das fertige Kawagetränk.

Als Ergebnis dieses Herstellungsverfahrens muß man sich das Kawagetränk als eine weißliche, milchig-trübe Flüssigkeit vorstellen, in der Harzteilchen und feine Holzpartikel aus dem Wurzelstock schwimmen. Im Gegensatz zu dem Geruch, der als angenehm und entfernt an Flieder erinnernd beschrieben wird (STEINMETZ, 1960), soll der Geschmack von Kawa seifig fade sein, nach Meinung anderer Beobachter auch scharf und bitter. Die Eingeborenen selbst scheinen das Kawagetränk aufgrund seines Geschmackes nur mit einiger Überwindung zu sich genommen zu haben, in Erwartung der angenehmen Wirkung, die sich einige Zeit später einstellt (COOK, 1784).

Vergleicht man die zahlreichen Berichte über die polynesische Sitte des Kawatrinkens, so ergeben sich, insbesondere bei Angaben über die Wirkung sowie auch über die Anwendung von Kawa in der Volksheilkunde, sehr unterschiedliche, z. T. widersprechende Angaben. Abgesehen von den üblichen Fehlerquellen ethnographischer Berichterstattung, wie Subjektivität, mangelnde Qualifikation der Beobachter, Alter der Berichte etc. scheint vor allem folgender Umstand

für die Differenzen verantwortlich zu sein:
In einem geographisch so großen Gebiet wie der polynesischen Inselwelt haben sich im Laufe der Zeit zahlreiche Variationen in der Herstellung des Kawagetränkes herausgebildet, wodurch verschiedenartig wirksame Zubereitungen resultieren. Sie erklären sich

1. durch Verwendung verschiedener Varietäten der Kawapflanze mit möglicherweise anderem Wirkstoffgehalt,
2. durch Verwendung oberirdischer Teile für das Kawagetränk, statt des üblicherweise gebrauchten Rhizoms,
3. durch unterschiedliche Herstellungsverfahren: Mazerieren des Drogenmaterials statt Kauen,
4. durch Verwendung stark getrockneter oder aber frischer, "grüner" Droge.

Ein wichtiges Kriterium ist außerdem die eingenommene Menge des Kawatrankes, da anscheinend je nach Dosis verschiedene Wirkungen auftreten.

Im heutigen Verbreitungsgebiet von Piper methysticum wird eine Reihe von Varietäten unterschieden, die hinsichtlich Entwicklungsdauer, Höhe der gesamten Pflanze, Farbe von Blättern und Stengeln und schließlich auch in der Qualität der Rhizomdroge variieren sollen. STEINMETZ (1960) beschreibt deren 5, die auf Fidji vorkommen sollen. Nach GATTY (1956) kennt man auf den Marquesas 21 Varietäten und VAN VEEN (1938 b) nennt 2, die er auf Neuguinea sammelte und als erster auch vergleichend pharmakologisch untersuchte. Diese beiden Sorten, die VAN VEEN als rote und grüne Varietät bezeichnete, unterscheiden sich nicht nur morphologisch, sondern auch in ihrer Wirkung:
In Versuchen mit Tauben erwies sich z. B. die grüne Varietät bezüglich Sedation 4-fach wirksamer als die rote Varietät. Wir haben daher Grund zu der Annahme, daß die einzelnen Varietäten einen unterschiedlichen Wirkstoffgehalt aufweisen und zu verschieden starken

Kawazubereitungen führen können.

COOK (1784) beobachtete während seiner 3. Reise, daß auf der Insel Odaheite die Stengel der Kawapflanze gebraten und geröstet, dann zerstampft und, ohne gekaut worden zu sein, mit Wasser übergossen wurden. Auch die Blätter wurden dabei mitverarbeitet, indem man sie unter Zugabe von Wasser zerstampfte. Ähnliches lesen wir auch bei VAN VEEN (1938 b): "Auf den Fidji-Inseln scheint ein grüner Tee bekannt zu sein, der durch Stampfen der Blätter und jungen Stengel hergestellt wird; daneben kennt man dort auch einen schwarzen Kawatee, der aus alten Stengeln und Wurzeln zubereitet wird. Beide Sorten scheinen gewöhnlich keine narkotische Wirkung zu haben, jedoch als Tonikum ... in großen Mengen getrunken zu werden."
Von GATTY (1956) wird auch der verschiedene Trocknungsgrad der verwendeten Droge als Ursache unterschiedlicher Wirkung angegeben. Er schreibt: "Ohne Zweifel ist die grüne Kawa, also die Kawa, die noch nicht vollständig getrocknet ist, viel stärker als die gut getrocknete."

Über die Wirksamkeit der einzelnen Kawazubereitungen läßt sich folgendes entnehmen: Die Methode des Kauens von Kawadroge scheint das als Sedativum wirksamste Getränk zu liefern, wenn als Droge alte, aber noch frische Wurzelstöcke verwendet werden.
Wesentlich schwächer in der Wirkung sollen dagegen diejenigen Kawazubereitungen sein, die durch Zerstoßen oder Zerreiben der Droge hergestellt werden, was heute unter dem Einfluß der europäischen Zivilisation zum gebräuchlichsten Verfahren geworden ist (LEWIN, 1927; VAN VEEN, 1938 b; GORDON-CUMMING, 1882;MADAUS, 1938).

Nach Ansicht der meisten Autoren verursacht das Kauen und Einspeicheln der Droge eine Emulgierung der schwer wasserlöslichen Inhaltsstoffe, wodurch sie dann fein verteilt, in emulgierter oder suspendierter Form in größerem Umfang resorbierbar werden.

Eine weitere Variante des Kawatrankes, die bei VAN VEEN (1938 a, 1938 b) erwähnt wird, hat anscheinend gar keine sedativen Eigenschaften mehr, sondern wirkt im Gegensatz dazu anregend und tonisierend. Zu dieser Art Kawa wurden wohl nur jüngere Stengel und Blätter benutzt, die nicht gekaut, sondern zerstampft und mit Wasser vermischt wurden.

Die Wirkungen des Kawatrankes

Eine genaue Analyse der Kawawirkung am Menschen im Rahmen medizinisch kontrollierter Versuche ist unseres Wissens bisher nicht erfolgt, und wir sind daher in diesem Punkt nach wie vor auf die Aussagen der ethnographischen Literatur angewiesen. Alle Erscheinungen, die bei Zubereitung und Genuß des Kawatrankes auftreten, unterliegen naturgemäß subjektiver Beurteilung, sowohl von seiten des Trinkenden als auch von seiten des Beobachtenden. Um eine möglichst gesicherte Darstellung der auftretenden Wirkungen zu geben, werden hier im wesentlichen nur diejenigen Symptome genannt, denen durch die übereinstimmende Schilderung bei verschiedenen Autoren ein hoher Grad an Wahrscheinlichkeit zuzubilligen ist.

Beim Kauen der Kawadroge soll ein brennendes Gefühl im Munde auftreten (STEINMETZ, 1960), dem eine längere Zeit anhaltende Anästhesie der Zunge und der Schleimhäute folgt. Die Speichelproduktion wird angeregt, doch soll der Speichel dickflüssiger werden.

Nach Einnahme geringer Mengen des Getränkes ist eine tonisierende und anregende Wirkung zu beobachten, verbunden mit einer psychischen Relaxation nach Art eines Ataracticums: "... Es verschwindet jegliche Müdigkeit und Mattigkeit, es tritt vollkommene Sorglosigkeit ein" (MADAUS, 1938).
"Ein sorgfältig bereitetes Kawagetränk, in kleinen Mengen aufgenommen, veranlaßt nur leichte, angenehme Zustandsänderungen.

Es stellt dann ein leicht stimulierendes Getränk dar, nach dessen Aufnahme Strapazen ertragen werden können. Es erfrischt den Körper nach ermüdenden Anstrengungen, macht den Kopf klar und schärft die Geisteskräfte. Man fühlt sich danach frisch, behaglich und besonders wohl." (LEWIN, 1927)'Seine Wirkung ist wie Riechsalz" (GORDON-CUMMING, 1882).

Höhere Dosen Kawa rufen eine gewisse "Trunkenheit" hervor, die aber die geistigen Funktionen nicht beeinflußt, sondern sich in einer Lähmung der willkürlichen Muskulatur und vor allem der Gliedmaßen äußert.

"... Führt zu verminderter Kontrolle über die Nerven der Arme und Beine, Gemütsbewegungen und -regungen bleiben unbeeinflußt" (TITCOMB , 1948).
"Man ist bei erhaltenem Bewußtsein nicht in der Lage, die Bewegungen der Beine zu lenken" (LEWIN, 1927).
"Der Mann liegt dann hilflos am Boden und wird alles gewahr, was um ihn ist." (GORDON-CUMMING, 1882).
"Je nach individueller Empfindlichkeit tritt ein Gefühl der Schwere im Kopf auf, ... die Augenlider werden schwer, ein allgemeines Schlafgefühl bemächtigt sich des Körpers, die Kontrolle über die Körperbewegungen geht verloren, der Gang wird wacklig, die Sprache lallend" (VAN VEEN, 1938 b). An anderer Stelle berichtet derselbe Autor, daß das Gesicht des Kawatrinkers in dieser Phase geschwollen sei, die Pupillen seien erweitert, reagierten jedoch nicht auf Licht. Über die Auswirkungen auf die Sinnesorgane berichtet auch LEWIN (1927): "Das Auge sieht die vorhandenen Gegenstände, will und kann sie aber nicht gehörig fixieren, ebenso wie das Ohr perzipiert, ohne sich über das Gehörte Rechenschaft geben zu können oder zu wollen!"

Dieser Zustand geht bald in einen tiefen Schlaf über, der 2-10 Stunden dauern kann (THIERFELDER, 1938). Nach LEWIN (1927) soll der Schlaf nach Einnahme mäßiger Mengen Kawa nach 20-30 Minuten ein-

treten, bei Einnahme größerer Mengen schneller.

Unterschiedliche Angaben werden über Träume im Kawaschlaf gemacht: Während LEWIN (1927) und MADAUS (1938) von unzusammenhängenden Träumen sprechen, die häufig von erotischen Visionen begleitet sein sollen, berichtet VAN VEEN (1938 b), daß Träume nach Kawagenuß nicht kommen sollen und auch STEINMETZ (1960) ist der Meinung, daß Kawa zu festem und traumlosem Schlaf führt.

LEWIN (1927) gibt auch an, daß die Sensibilität im Kawaschlaf herabgesetzt sei, was im Einklang mit VAN VEENs Bemerkung über die ausbleibende Pupillenreaktion für eine Form milder Narkose sprechen würde.

Es sind also zwei gegensätzliche Wirkungskomponenten festzustellen:

1. eine tonisierende (zentral anregende)

und

2. eine sedativ-"narkotische" (zentral lähmende Wirkung).

Beide Phasen scheinen zwar während eines normalen Kawarituals hintereinander aufzutreten, doch haben die Eingeborenen teilweise sehr wohl vermocht, eine Trennung der Wirkungen zu erreichen, mit dem Ziel, die tonisierende Phase allein ohne nachfolgende sedativ-"narkotische" Phase auszunutzen. Zu diesem Zweck wurde entweder durch Änderung des Herstellungsverfahrens eine schwächere Kawa "gebraut" (Mazeration oder Aufguß statt Kauen, Benutzung weniger stark sedativ wirkender Varietäten der Kawapflanze, Verwendung der Blätter und Stengel statt der Wurzelstöcke etc.), oder es wurde von einem starken Kawagetränk einfach eine geringere Menge getrunken.

Uns scheint daher, daß einzig die Kawadosis bzw. die Menge der resorbierten, wirksamen Prinzipien für die Art der Kawawirkung verantwortlich ist: Bei Einnahme kleiner Mengen haben wir mit einer tonischen, bei Einnahme größerer Mengen mit einer "narkotischen" Wirkung zu rechnen. Dafür spräche u. a. auch die Aufeinanderfolge

der Wirkungen als Ausdruck der beim Weitertrinken stattfindenden Steigerung der insgesamt konsumierten Menge Kawa.
Ob ähnliche Dosis-Wirkungs-Beziehungen auch für die anderen verwendeten Organe, Blätter und Stengel von Piper methysticum und auch für die verschiedenen Varietäten der Pflanze gelten können, ist wegen fehlender Untersuchungen in dieser Richtung nicht zu entscheiden.
Weder in der "narkotischen" noch in der tonischen Phase werden die Kawatrinker agressiv oder streitsüchtig, wie das bei Alkoholgenuß häufig zu beobachten ist. Vielmehr ruft Kawa bei dem Trinker ein Gefühl der Ausgeglichenheit, Behaglichkeit und Ruhe hervor, das psychische Spannungen löst und über Unglücksfälle hinweghilft. TITCOMB (1948) zitiert ein Hawaiianisches Sprichwort: "Jemand der Kawa trinkt ist immer noch ein Mensch, wer Alkohol trinkt wird ein Tier."
Dieser ataractisch-tranquilisierenden Effekte wegen scheint Kawa hauptsächlich eingenommen worden zu sein, weniger einer euphorischen Wirkung wegen, die nicht immer einzutreten scheint oder zumindestens von kurzer Dauer ist (VAN VEEN, 1938 b; STEINMETZ, 1960). Auffallend ist die Tatsache, daß nach dem Kawaschlaf keine unangenehmen Nachwirkungen zu spüren sind, keinerlei Katerstimmung wie nach Alkoholgenuß, sondern der Trinker fühlt sich am nächsten Tage frisch und gestärkt; nur ein gewisser Appetitmangel soll sich zuweilen einstellen (GATTY, 1956). In manchen Fällen allerdings scheint während des Trinkens ein ausgesprochenes Unwohlsein aufzutreten, das sich in Übelkeit und Brechreiz äußert (VAN VEEN, 1938 b; TITCOMB, 1948). Durch häufigen Genuß des Kawatrankes über längere Zeit und im Übermaß stellt sich eine Hautkrankheit ein, die sich durch ein Rissigwerden der Haut anzeigt. Die Haut wird stumpf und unansehnlich, in schweren Fällen auch schuppig und geschwürig; nach Absetzen des Kawatrinkens soll sie jedoch wieder glatt und frisch werden (TITCOMB, 1948). Als weitere Nebenwirkungen zu langen Kawagebrauchs werden Leberleiden und Abmagerung angegeben (LECLERC, 1937), die in schweren Fällen in allgemeine körperliche Schwäche und Erschöpfung

übergeht (LEWIN, 1927; TITCOMB, 1948).
Außerdem scheinen gewöhnte Kawatrinker typische Veränderungen des Gesichtes aufzuweisen: Sie sollen ein grobes und gegerbtes Antlitz bekommen (Hautwirkung?), stur blicken und rote, blutunterlaufene Augen haben. Ihr Sehvermögen soll gestört sein (LEWIN, 1927;GATTY, 1956; TITCOMB, 1948).

Zu der Frage, ob auch Sucht auftreten kann, lesen wir bei LEWIN, (1927): "Der Kawatrinker wird von fortwährendem Verlangen nach seinem Lieblingsgetränk gequält, welches er sich nicht selbst bereiten kann. Alte, weißhaarige Leute, durch jahrelange Hingabe an diesen Gebrauch heruntergekommen, betteln um gerade bereitetes Kawa." Erstaunlich ist eine Angabe bei GATTY (1956), daß gewohnheitsmäßige Trinker durch Kawa schneller betrunken werden sollen als Gelegenheitstrinker.

Kawa in der Volksmedizin

Eine Droge mit so auffallenden Wirkungen fand selbstverständlich auch Anwendung als Heilmittel in der Volksmedizin Polynesiens:

1. Als Ataracticum und Psychosedativum zum Lösen von Spannungen, sei es bei Überarbeitung, sei es nach Unglücken. Zum Beseitigen psychischer Störungen (Angst), als Beruhigungsmittel für Kinder (TITCOMB, 1948), zum Entspannen der Muskeln nach erschöpfender Tagesarbeit.
2. Als Tonicum bei allgemeiner Schwäche und Abgeschlagenheit.
3. Als Schlafmittel: Dazu reichte nach STEINMETZ (1960) ein halbes Weinglas eines starken Kawatrankes, um nach einer halben Stunde tiefen Schlaf zu erzeugen.
4. Als Mittel für Abmagerungskuren: Stärkste Kawa wurde im Übermaß getrunken, wobei nur Poi und Fisch gegessen

wurde (GATTY, 1956 und TITCOMB, 1948).

5. Als Anaestheticum und Analgeticum innerlich und äußerlich. STEINMETZ (1960) berichtet, daß Frauen auf Neuguinea große Mengen Kawa zu sich nehmen, um sich vor Tätowierungen schmerzunempfindlich zu machen. VAN VEEN (1938 b) nennt die äußerliche Anwendung als Anaestheticum bei schmerzhaften Mund- und Zahnerkrankungen. TITCOMB (1948) spricht von einer Verwendung bei sehr starken Kopfschmerzen.

6. Als Hautmittel; ebenfalls zur äußeren und inneren Anwendung. In Umschlägen bei Geschwüren sowie innerlich bei Schorfen (TITCOMB, 1948). Nach MOURITZ (1916) sollen hawaiianische Ärzte Kawa in alkoholischer Lösung oder in Salbenform bei Hautaffektionen einschließlich der Lepra verwendet haben.

7. Als Antigonorrhoicum und Therapeuticum bei Erkrankungen des Urogenitaltraktes (LECLERC, 1937). STEIN - METZ (1960) gibt folgende volksmedizinische Indikationen im Bereich des Urogenitaltraktes an: Colpitis, Cystitis, Nierenkolik, Metritis, Salpingitis und Bettnässen bedingt durch Muskelschwäche. LEWIN (1927) hebt besonders die erfolgreiche Anwendung bei Gonorrhoe und chronischen Blasenentzündungen hervor.

Neben den 7 Hauptanwendungsbereichen der Kawa in der Volksmedizin, über die sich die Autoren der zahlreichen ethnologischen Berichte weitgehend einig sind, müssen noch verschiedene Punkte erwähnt werden, bei denen widersprüchliche Meinungen herrschen:

1. Umstritten sind die Wirkungen der Kawa als Magenmittel. Während LEWIN (1886) die Kawa als appetitanregendes Mittel preist, das zu diesem Zweck eine halbe Stunde

vor den Mahlzeiten einzunehmen sei und LECLERC (1937) es als Magentonicum empfiehlt, beobachtete VAN VEEN (1938 b) Vomitus und TITCOMBs und GATTYs Berichte sprechen von zuweilen vorkommendem Appetitmangel und auch Erbrechen nach Kawagenuß.

2. SEEMANN (1873) nennt Kawa die stärkste existierende, schweißtreibende Droge. Auch LEWIN (1886) erwähnt wäßrige Auszüge, die zu Schwitzkuren verwandt wurden. VAN VEEN (1938 b) dagegen konnte eine diaphoretische Wirkung der Droge nicht bestätigen.

3. Angeblich sollen Frauen durch Kawagenuß steril werden. Nach HARAHAP (VAN VEEN, 1938 b) liegen dafür jedoch keine entscheidenden Beweise vor und Versuche, die 1925 von JANSEN an weißen Ratten vorgenommen wurden, verliefen negativ, was die Beeinflussung der Fruchtbarkeit anbetrifft (VAN VEEN, 1938 b).
TITCOMB (1948) zitiert HANDY (1934): "Kawablätter in die Vagina gestopft verursachen Fehlgeburt" und STEINMETZ (1960) gibt an, daß bei den Südseeinsulanern die Meinung herrsche, Frauen blieben nach reichlichem Kawagenuß steril und seien daher auf manchen Inseln vom Kawatrinken ausgeschlossen gewesen. Genauere Informationen über diesen Punkt seien jedoch nicht zu erhalten.

4. Weitere Indikationen: LEWIN (1886): Gegen Tuberkulose, Asthma, Gicht, Diarrhoe und Fieber. TITCOMB (1948): "Bei Lungenkrankheiten und verwandten Leiden".
STEINMETZ (1960): Gicht, hoher Blutdruck, Bronchitis, Diarrhoe, Wassersucht und Enteritis.
Bestätigungen anderer Autoren hierzu konnten nicht gefunden werden.

2. Tierexperimentelle Untersuchungen

Fast immer, wenn die moderne Medizin sich für ein volksheilkundliches Mittel interessiert, ist die gleiche Abfolge von Schritten zu beobachten, die über dem Wege der Aufklärung von Wesen und Wirkung dieses Mittels zu seiner allgemeinen Nutzbarmachung führen.

Die Phase der "Aufklärung von Wesen und Wirkung" beginnt stets mit der Inbesitznahme der volkskundlichen Erfahrungen und ihrer nachahmenden Anwendung, um dann, wegen unsicherer und wechselnder Ergebnisse, in reine Forschung überzugehen.
In diesem Stadium werden im allgemeinen die wirksamen Agentien angereichert, dann isoliert und schließlich identifiziert, wobei eine parallel geführte pharmakologische Prüfung unerläßlich ist. Nur sie kann, anhand von tierexperimentellen Tests der angereicherten Extrakte und der Reinsubstanzen, entscheiden, ob die eigentlichen Wirkstoffe vorliegen.

Etwa in diesem Stadium der Aufklärung befindet sich das "Kawaproblem", nämlich dem der pharmakologischen Untersuchung von Reinstoffen. Folgende Wirkungen konnten bisher nachgewiesen werden:

a) Sedation

Schon die ersten Versuche, die von LEWIN (1886) an Vögeln und anderen Versuchstieren mit bestimmten Fraktionen des Kawaharzes vorgenommen wurden, zeigten eine stark sedative, ja lähmende Wirkung der Kawaextrakte: Die Vögel konnten nach Kawabehandlung ihre Flügel nicht mehr bewegen, und allgemein war ihnen eine starke Sedation anzumerken. An der Katze rief subcutan appliziertes Harz tiefen Schlaf hervor.

Im Gegensatz zu den Harzfraktionen bewirkten orale Gaben von kristallinem Methysticin und Yangonin bei LEWINs Versuchstieren jedoch keine nennenswerten Effekte.
SCHÜBEL (1924), der einige Zeit später LEWINs Untersuchungen weiterführte, beobachtete an Tauben nach intramuskulärer Injektion von

Kawaharz (etwa 570 mg in alkohol. Lösung) nach einer knappen Stunde vollständige Narkose, Reflexlosigkeit, etwas später dann langanhaltenden, tiefen Schlaf.

Ebenfalls mit Tauben experimentierte VAN VEEN (1938 b), der sich als erster bei der Isolierung von Inhaltsstoffen aus dem Kawaharz nicht von rein chemischen Kriterien leiten ließ, sondern die pharmakologische Wirksamkeit als Leitfaden der Trennung benutzte. Er erkannte im Dihydrokawain (von ihm Marindinin genannt) eine sedativ wirksame Substanz: 50-70 mg davon riefen bei Tauben Schlaf hervor und etwa 500 mg waren für den gleichen Effekt bei Affen von 1 kg Gewicht nötig. Nach seiner Meinung sollte es sich beim Dihydrokawain (DHK)um das wirksame Prinzip der Kawadroge überhaupt handeln. HÄNSEL und BEIERSDORFF (1959) konnten jedoch mit einem weiteren Reinstoff aus Piper methysticum starke Sedation hervorrufen. Sie stellten fest, daß das Dihydromethysticin (DHM) in ähnlicher Dosierung dem DHK gleichartig wirkt. Allerdings scheint nach DHM die Schlafwirkung langsamer einzutreten als nach DHK, dafür aber auch um so länger anzuhalten. Diese Angaben befinden sich in guter Übereinstimmung mit einigen von MEYER (1962) in jüngster Zeit vorgenommenen Untersuchungen.

MEYER (1962) gibt an, daß in seinen Versuchen an der Maus beide Substanzen starke sedative Eigenschaften aufwiesen, doch mit geringen quantitativen Unterschieden: Etwa 120 mg/kg DHK in öliger Lösung i.p. waren wirkungsgleich mit 140 mg/kg DHM. Mit Hilfe des von ihm modifizierten Tests nach THER, durch den die Motilität der Versuchstiere im Vergleich zu Kontrolltieren gemessen wird, konnte der gleiche Autor zeigen, daß bereits 50 mg/kg DHK oder DHM bei gleicher Applikationsart sedativ wirkten. Höhere Dosen von 100-300 mg/kg führten bei den Versuchstieren zur Erschlaffung der Skelettmuskulatur, zu einer Verminderung der Reflexerregbarkeit und schließlich zur Seitenlage.

Nach KRETZSCHMAR und MEYER (1965 a) wirken noch andere Inhaltsstoffe der Kawadroge ebenfalls sedativ: So das Yangonin, Kawain und Methysticin, jedoch nicht das Desmethoxyyangonin. Die Wirksamkeit dieser Substanzen ist anscheinend viel geringer als die des DHK bzw. des DHM.

Einige amerikanische Autoren (FURGIUELE, 1962, 1962 a, 1965; O'HARA et al., 1965) haben interessanterweise sedative Eigenschaften bestimmter, wasserlöslicher Fraktionen der Kawadroge festgestellt, in denen nach ihren Ergebnissen nur sehr wenig oder gar keine der genannten sedativ wirksamen Pyrone enthalten sein sollen. Sie machen für diese Effekte andere, noch unbekannte Substanzen verantwortlich, die nach ihrer Meinung dabei als ZNS-Depressoren fungieren.

Hervorzuheben sind aus diesen Arbeiten einige Ergebnisse, die auf eine psychopharmakologische Aktivität der geprüften Fraktionen im Sinne eines Ataracticums hinzudeuten scheinen. Z. B. gelang es den obigen Autoren durch intraperitoneale Applikation einer bestimmten Fraktion die Wutreaktion bei Septumratten um 50 % zu vermindern, und zwar in Dosen, die nur geringfügige Beeinträchtigungen des Bewegungsvermögens bei den behandelten Tieren hervorriefen.

b) Narkosepotenzierung

KLOHS und KELLER (1959) waren die ersten Untersucher, die im Tierversuch einzelne Kawapyrone mit einem Barbiturat kombinierten und dabei eine auffallende Verstärkung der Barbituratwirkung feststellten.

Sie machten die Versuche an Mäusen, denen nach i.p.-Applikation von Pentobarbital die Kawastoffe in Form einer Tweensuspension oral gegeben wurden. DHM erwies sich dabei als die am stärksten narkosepotenzierende Substanz. Kawain und Methysticin riefen deutlich schwächere Effekte hervor; DHK (!) und Yangonin waren unwirksam.

Nur kurze Zeit später brachten MEYERs wesentlich umfangreichere Untersuchungen weitere Aufschlüsse (MEYER, 1962): Er setzte die Kawastoffe im Unterschied zu KLOHS und KELLER (1959) in öliger Lösung i.p. ein und prüfte sie in Kombination mit Hexobarbital, Pentobarbital, Urethan und Gluthetimid. MEYER (1962) konnte die starken, barbituratpotenzierenden Eigenschaften des DHM ebenfalls nachweisen, doch fand er gleichzeitig, daß das DHK zwar geringer als das DHM, aber noch eindrucksvoll die Barbituratwirkung verstärkte. Die längste, von MEYER (1962) erreichte Seitenlagezeit an der Maus betrug 27, 1 Stunden, was nach Gabe von 240 mg/kg DHM + 150 mg/kg Hexobarbital beobachtet wurde. Die gleiche Dosis Hexobarbital vermag, einzeln verabreicht, dagegen nur eine Seitenlagezeit von etwa 2 Stunden hervorzurufen.

Trotz dieser erstaunlichen Wirksamkeit des DHM scheint es sich jedoch um einen unspezifischen Synergismus zu handeln, da nach MEYER (1962) auch die Urethan- und Gluthetimidwirkungen verstärkt werden sowie die N_2O- und Äthernarkose (MEYER und KRETZSCHMAR, 1966).

c) Antikonvulsive Wirkung

In ihrem Bemühen, eine möglichst umfassende Charakterisierung der Kawalactone und besonders der beiden sehr aktiven Verbindungen DHK und DHM zu geben, untersuchten MEYER (1964), MEYER und MEYERBURG (1963, 1964), KRETZSCHMAR und MEYER (1965 b) deren Verhalten gegenüber experimentell erzeugten Krämpfen.
Sie kamen zu folgenden Resultaten:

Elektrokrampf: DHM und DHK entfalteten an Maus und Ratte eine bemerkenswerte Schutzwirkung gegenüber dem maximalen Elektroschock und zeigten damit eine Verwandtschaft zu Diphenylhydantoin und Luminal.
Das DHM war dabei, wie schon in der Narkoseverlängerung, etwa 2-2, 5 mal stärker wirksam als das DHK und erreichte schon in einer

Dosis von 25 mg/kg (i.p. in öliger Lösung appliziert), also noch unterhalb sedativer Dosen, eine Erhöhung der Krampfschwelle um 33 % ; d.h. die Auslösung des maximalen Elektroschocks gelang bei den mit DHM vorbehandelten Tieren also erst mit einem um 33 % stärkeren elektrischen Reiz. Die doppelte Dosis DHM (60 mg/kg) erhöhte die Krampfschwelle bereits um mehr als 250 %, was für die Dauer von etwa 6 Stunden anhielt.

Bei oraler Applikation der Kawasubstanzen waren für die gleichen Effekte in der Regel 2, 5-fach höhere Dosen nötig als bei intraperitonealer Gabe.
Bei einem Vergleich mit therapeutisch angewandten starken Antikonvulsiva ergibt sich eine beachtliche Wirksamkeit des DHM: 25 mg/kg i.p. waren in der Hemmung des Elektrokrampfes wirkungsgleich mit 10 mg/kg Luminal bzw. 5 mg/kg Diphenylhydantoin.

Nach einer neueren Mitteilung von KRETZSCHMAR und MEYER (1965 b) soll das DHM bezüglich antikonvulsiver Eigenschaften im Elektroschocktest sogar noch durch das Methysticin übertroffen werden. Auch Kawain, Desmethoxyyangonin und Yangonin seien wirksam, wovon das Yangonin allerdings die schwächsten Effekte zeigen und erst in deutlich sedativen Dosen wirken soll.

Chemokrampf: KLOHS et al. stellten 1959 fest, daß die beiden Kawalactone DHM und Methysticin eine Schutzwirkung gegenüber den Strychninkrämpfen der Maus ausübten und dadurch die Letalitätsrate der strychninbehandelten Versuchstiere wesentlich verminderten.
Diese Ergebnisse wurden bestätigt und erweitert durch MEYER (1964), KRETZSCHMAR und MEYER (1965 a, 1965 b), MEYER und MEYERBURG (1963), MEYER und KRETZSCHMAR (1966), die nicht nur den Strychninantagonismus der Kawastoffe genauer untersuchten, sondern auch deren Verhalten gegenüber anderen krampfauslösenden Substanzen prüften.

Es stellte sich heraus, daß alle Kawapyrone eine deutliche Antistrychninwirkung haben, die beim DHM und DHK stark ausgeprägt, jedoch am eindrucksvollsten bei Methysticin und Kawain ist. Das Methysticin z. B. übertrifft in der Wirksamkeit bei weitem das Mephenesin, das lange als spezifischer Strychninantagonist galt. Mephenesin wirkt bei Strychninvergiftungen der Maus nur lebensrettend bis zu einer Grenzdosis von 3 mg/kg Strychnin s.c., höhere Dosen des Giftes werden auch durch größte Mephenesingaben nicht mehr überlebt. Dagegen schützt Methysticin (in Mengen von 50-400 mg/kg i.p.) noch bei Strychnindosen von 4 mg/kg und mehr und ist erst gegenüber 12 mg/kg Strychnin ohne Wirkung. (Die $L_D 50$ des Strychnins beträgt bei der Maus normalerweise 1,45 mg/kg ± 0,048 mg/kg s.c.)

Unter dem Einfluß der Kawapyrone kommt es bei strychninvergifteten Mäusen neben der erheblich gesteigerten Überlebensrate auch zu typischen Veränderungen des Krampfbildes: Während z. B. durch Dosen bis 100 mg/kg DHM sowohl tonische als auch klonische Krämpfe gehemmt werden, treten ab 150 mg/kg DHM klonische Krämpfe wieder auf, die dann eigenartig gleichmäßig und langanhaltend verlaufen.

Ähnlich den Strychninkrämpfen werden, wie MEYER (1964) zeigen konnte, auch Pikrotoxinkrämpfe durch Kawapyrone gehemmt.
Die Wirkungen zweier anderer Krampfgifte werden ebenfalls beeinflußt: Tonische Krämpfe, die durch Bemegrid und Pentetrazol ausgelöst werden, erfahren, nach anfänglicher Förderung durch geringe Pyrondosen, eine deutliche Hemmung nach größeren Pyrongaben. Klonische Bemegrid- und Pentetrazolkrämpfe werden dagegen verstärkt.

In diesem Zusammenhang sei auch erwähnt, daß es MEYER und DIERSTEIN (1965) gelang, experimentell ausgelösten Tremor mit Hilfe von Kawapyronen zu hemmen. Der Tremor, eines der Symptome der Parkinson-Krankheit, wurde bei Mäusen durch Injektion von 1,4-Dipyrrolidino-2-butin (Tremorin) hervorgerufen und konnte nach Gabe von

80 mg/kg DHM i.p. abgeschwächt, nach Gabe von 150 mg/kg i.p. vollständig unterdrückt werden. Das DHK war in diesen Versuchen wiederum weniger wirksam als das DHM.

d) Spasmolytische Wirkung

Neben einer zentralen Wirkung auf die Muskulatur, wie sie aus den antikonvulsiven Eigenschaften der Kawalactone hervorgeht, wurden auch periphere Effekte dieser Substanzen an der Muskulatur nachgewiesen: Als solche gelten spasmolytische Effekte, die wiederum von MEYER (1965 a) am Beispiel des DHM gezeigt werden konnten:

Er prüfte diesen Kawastoff gegenüber Spasmen, die sowohl an Organpräparaten als auch am Ganztier ausgelöst worden waren. Bei allen untersuchten Organen entfaltete das DHM eine mehr oder weniger stark ausgeprägte, spasmolytische Aktivität, obwohl als Spasmogene so verschiedenartige Substanzen wie Acetylcholin, Bradykinin, Adrenalin, Nicotin, $BaCl_2$, 5-Hydroxytryptamin (bei isolierten Organen) sowie Ocytocin und Histamin am Ganztier eingesetzt waren. MEYER (1965 a) bezeichnet daher die spasmolytischen Eigenschaften des DHM als unspezifisch.
Am besten zu beeinflussen waren in diesen Versuchen die 5-Hydroxytryptamin- und Nicotinspasmen des Meerschweinchenileums, wobei das DHM fast die Wirksamkeit des Papaverins erreichte, dessen Dosen bei gleicher Wirkung nur etwa 2/3 derjenigen des DHM betrugen. Gewisse andere Ähnlichkeiten zwischen beiden Substanzen, z. B. die fast gleichartige Hemmung der Acetylcholin-, 5-Hydroxytryptamin- und $BaCl_2$-spasmen lassen MEYER (1965 a) zu dem Schluß kommen, daß die spasmolytische Wirkung des DHM "papaverinartig muskulotrop sei".
Außer der Hemmung chemisch induzierter Kontraktionen durch DHM konnte MEYER (1965 a) an einigen Muskelpräparaten auch eine Hemmung der Spontankontraktion beobachten, die mit einer Herabsetzung des Muskeltonus verbunden war.

Dieser Hinweis ist, wenigstens teilweise, im Einklang mit einer Beobachtung SCHÜBELs aus dem Jahre 1924, der schon damals verschiedene, isolierte, glattmuskelige Organe mit den α- und β-Harzfraktionen behandelte und dabei feststellte, daß die wirksamen Harze der Kawawurzel in kleinen Quantitäten zunächst erregend wirken und bei höherer Konzentration Lähmung verursachen.

e) Lokalanaesthesie

Sie gehört zu den auffallendsten Wirkungen der Kawadroge und wurde bereits von LEWIN (1886) nach Applikation seiner Harzfraktionen an Fröschen und verschiedenen Warmblütern nachgewiesen.

Später berichtete auch VAN VEEN (1938 a) über lokalanaesthetische Effekte des DHK, die schon beim Schmecken des Stoffes an einem Pelzigwerden der Zunge feststellbar sind.
In letzter Zeit untersuchten MEYER und MAY (1964, 1965) auch diesen Effekt eingehender. Sie konnten mit modernen Methoden eine lokalanaesthetische Wirksamkeit fast aller Kawapyrone eindrucksvoll belegen: Bei Prüfung der Oberflächenanaesthesie an der Kaninchencornea erwies sich das Kawain, gemessen an den kleinsten effektiven Dosen, als wirksamstes Kawalacton. Die übrigen Substanzen waren in der Reihenfolge DHK - M - DHM schwächer wirksam, das Yangonin war unwirksam. Kawain besaß dabei nicht nur die gleiche Wirkungsdauer wie das Cocain, sondern auch etwa die gleiche Grenzkonzentration zur Auslösung erster lokalanaesthetischer Effekte. Procain hatte in diesen Versuchen nur 1/6 der Aktivität des Kawains.

In der Infiltrationsanaesthesie, geprüft im Quaddeltest am Meerschweinchen, waren die Kawapyrone mit Ausnahme des Yangonins ebenfalls wirksam, wenn auch etwas schwächer als in der Oberflächenanaesthesie. Immerhin verursachte z. B. das DHK in der höchstmöglichen Konzentration, die noch keine Gewebsschäden hervorrief (4 %), eine länger anhaltende Vollanaesthesie (38 Min.) als das in gleicher Konzentration geprüfte Procain-HCL (26 Min.).

f) Antiphlogistische und antipyretische Eigenschaften

Nach Untersuchungen von MEYER (1965 b) sind alle bisher isolierten Kawapyrone in der Lage, bestimmte, experimentell ausgelöste Entzündungen und Fieberzustände antagonistisch zu beeinflussen.

Die antiphlogistische Wirksamkeit ist jedoch bei den einzelnen Pyronen recht verschieden und richtet sich nach der Natur des jeweiligen Ödems: z. B. hemmen in einer Dosis von 100 mg/kg i.p. Kawain und Methysticin am stärksten das Formalinödem der Rattenpfote, Kawain und DHM das Serotoninödem und Methysticin und Yangonin das Dextranödem.
Kawain entfaltet dagegen bei den meisten Ödemen in etwa gleichbleibendem Umfang gute antiphlogistische Effekte. Das vergleichsweise mitgeprüfte Phenylbutazon wurde in seiner Wirkung stets vom jeweils aktivsten Kawalacton übertroffen.

Neben den hemmenden Einflüssen auf die Reizstoffödeme entwickelten DHM, Kawain und Yangonin auch eine gute Schutzwirkung gegenüber Schädigungen, die durch UV-Bestrahlung der Rattenhaut hervorgerufen werden können.
In geringerem Maße sind auch antipyretische Effekte im Tierversuch nach Applikation von Kawapyronen nachweisbar: Während Methysticin, DHM, Kawain oder DHK gegenüber dem Hefefieber der Ratte in Dosen von 100 mg/kg noch wirkungsgleich mit dem Phenylbutazon waren, erwiesen sie sich gegenüber dem Coli- und Lipopolysaccharidfieber des Kaninchens als wesentlich schwächer wirksam und wurden hierin von Aminopyrin und Phenylbutazon übertroffen.

Es scheint, daß die antipyretischen Eigenschaften der Kawalactone Ausdruck einer allgemeinen hypothermen Aktivität sind, da MEYER (1965 b) bereits am gesunden Tier eine Senkung der Körpertemperatur erreichen konnte, die bei allen Kawapyronen etwa gleich stark war.

g) Analgesie

Eine solche Wirkung haben die frühen Untersucher mangels geeigneter Methoden nicht einwandfrei belegen können.
Erst BRÜGGEMANN und MEYER (1963) gelang es, unter Benutzung der Brennstrahlmethode nach GROSS bei Kawasubstanzen auch analgetische Eigenschaften nachzuweisen.
Die zwei von ihnen geprüften Pyrone DHK und DHM waren an der Maus deutlich analgetisch wirksam, allerdings erst in recht hohen Dosen, die zugleich auch schon sedative Erscheinungen hervorriefen. Dabei besaß das DHK die größere Aktivität von beiden Stoffen: Erste analgetische Effekte, die nach Applikation von 140 mg/kg i.p. auftraten, ließen sich bereits mit 100 mg/kg DHK erzielen.

Bei einem Vergleich mit gebräuchlichen Analgetica zeigte sich, daß das DHK fast die Wirksamkeit des Dimethylaminophenazons erreicht, denn 100 mg/kg dieser Substanz waren mit etwa 120 mg/kg DHK aequieffektiv.

Nach kombinierter Verabreichung des DHK mit Acetylsalicylsäure, Coffein und Dimethylaminophenazon ergaben sich keine potenzierten sondern lediglich additive Effekte. Bemerkenswert ist dabei der Einfluß des Coffeins, der zu einem wesentlich früheren Wirkungseintritt und zu einer verkürzten Wirkungsdauer führt, ohne jedoch die Höhe des Analgesiemaximums zu beeinträchtigen.

h) Zentrale Muskelrelaxation

In ihrem Bemühen, Näheres über Angriffspunkt und Mechanismus der Pyronwirkung zu erfahren, prüften MEYER und KRETZSCHMAR (1966) auch den Einfluß der Kawalactone auf bestimmte Reflexe ihrer Versuchstiere. Sie fanden dabei, daß, neben der Hemmung verschiedener Fremdreflexe, vor allem tonische Dehnungsreflexe durch Kawain und Methysticin blockiert werden, und zwar in wesentlich geringeren Konzentrationen, als es mit Mephenesin möglich ist.

Dieser Befund stellt, nach der Auffindung sedativer, antikonvulsiver und narkosepotenzierender Effekte, eine weitere zentral ausgelöste Wirkung der Kawastoffe dar. Er ermöglicht zugleich die Deutung von Lähmungserscheinungen der willkürlichen Muskulatur wie Ataxie, Muskelerschlaffung und Seitenlage, die bei Versuchstieren nach Kawabehandlung zu beobachten sind.

Eine Beeinträchtigung der oben genannten spinalen und supraspinalen Reflexe, die normalerweise den Tonus der Skelettmuskulatur aufrechterhalten und eng mit dem Bewegungsvermögen verbunden sind, erklärt nach MEYER und KRETZSCHMAR (1966) die Lähmungserscheinungen als eine zentral-muskelrelaxierende Wirkung der Kawapyrone.

In dieser Eigenschaft, wie auch im übrigen Wirkungsspektrum, zeigen die Kawalactone eine enge Verwandtschaft zu Mephenesin, weshalb sie von MEYER und KRETZSCHMAR (1966) insgesamt als "zentrale Muskelrelaxantien vom Typ des Mephenesins" charakterisiert werden. Sie sind nicht vergleichbar mit Curare, dessen muskelrelaxierende Wirkung auf peripherem Wege zustande kommt.

Es muß noch hinzugefügt werden, daß die Kawapyrone, obwohl stark sedativ wirksam, praktisch keine narkotischen Eigenschaften besitzen: Wie wir aus elektroencephalographischen Studien MEYERs (1962) wissen, gelingt es bis in höchste Dosen nicht, durch Kawapyrone eine vollständige Auslöschung des EEG zu erreichen. In muskelrelaxierenden Konzentrationen hatten DHK, Kawain, DHM und Methysticin am Kaninchen nur geringen Einfluß auf die Spontanaktivität des Cortex, so daß auch im Tierversuch die Muskelrelaxation bei weitgehend erhaltenem Bewußtsein einzutreten scheint.

i) Weitere Effekte

Außer den bereits angeführten Wirkungen wurden nach Gabe von Kawapyronen im Tierversuch noch folgende Erscheinungen beobachtet:

1. DHK und DHM verursachen bei Hunden und Katzen in hohen Dosen (i.p. oder oral) regelmäßig Erbrechen kurz vor Eintritt der Seitenlage (MEYER, 1962).

2. Außerdem kommt es bei diesen Tieren nach größeren Mengen DHM oder DHK zu einer Tonuserhöhung der Extremitäten-Streckmuskulatur (Meyer, 1962).

3. Verschiedene Pyrone führen an Maus und Kaninchen zu einer Herabsetzung der Körpertemperatur sowie zu einer Verminderung des Sauerstoffverbrauchs und des Grundumsatzes (MEYER, 1962).

4. Intravenös verabreichtes DHM hat am nicht narkotisierten Kaninchen eine kurzdauernde Blutdrucksenkung zur Folge (MAY, MEYER und RAKOS, 1965).

Nach Ansicht MEYERs (1965 b) besitzen die Kawapyrone weder diuretische noch ganglienblockierende Eigenschaften.
Auch eine zentral anregende Wirkung im niederen Dosenbereich, die sich zur Erklärung der ersten Phase der Kawawirkung am Menschen heranziehen ließe, war nicht nachzuweisen. (Geprüft an niederen Dosen DHM; MEYER, 1962).

Die Zahl der verschiedenartigen Einzelwirkungen läßt sich zu 2 Gruppen zusammenfassen:

1. Zentrale Wirkungen, wozu Sedation, Narkosepotenzierung, antikonvulsive Eigenschaften, Analgesie und Zentrale Muskelrelaxation gehören und

2. periphere Wirkungen, zu denen Spasmolyse, lokalanaesthetische, antipyretische und antiphlogistische Effekte zählen.

Die Aktivität der Pyrone besteht dabei in allen Fällen in einer Dämpfung der zentralen wie auch der peripheren Funktionen.

Die pharmakologischen Eigenschaften der 6 getesteten Kawapyrone sind in der Tabelle 1 noch einmal in übersichtlicher Form dargestellt. Man erkennt, daß die Kawapyrone durchweg pharmakologisch aktiv sind. Jede dieser Substanzen besitzt aber ein unterschiedliches Wirkungsspektrum und ruft die jeweiligen Effekte in verschieden starker Intensität hervor.
Diese Tatsache, die bereits am Beispiel der antiphlogistischen Eigenschaften besonders deutlich wurde, trifft auch für die Gesamtheit der geprüften pharmakologischen Bereiche zu:
DHM z. B. wirkt am stärksten sedativ und übertrifft die anderen Pyrone auch in der Narkosepotenzierung.
Das DHK ist maximal wirksam als Analgeticum.
Kawain dagegen ist besonders aktiv als Muskelrelaxans, Lokalanaestheticum und übt die stärksten antiphlogistischen Effekte aus. Methysticin schließlich ist unübertroffen als Antikonvulsivum gegenüber elektrisch und chemisch induzierten Krämpfen und hat sich als wirsamster, nicht narkotischer Strychninantagonist erwiesen.
Yangonin und Desmethoxyyangonin besitzen, soweit geprüft, ebenfalls sedative, antiphlogistische oder antikonvulsive Eigenschaften, doch sind ihnen darin die übrigen Lactone weit überlegen.
Auch in chemischer Hinsicht nehmen Yangonin und Desmethoxyyangonin eine Sonderstellung innerhalb der Kawalactone ein, denn sie sind Dienolide im Gegensatz zu den anderen Kawapyronen, die sämtlich Enolide darstellen.

In gewissem Umfang läßt sich daraus eine Beziehung zwischen chemischer Konstitution und pharmakodynamischer Wirkung ableiten: Kawasubstanzen vom Enolidtypus sind pharmakodynamisch sehr aktiv und besitzen ein breit gefächertes Wirkungsspektrum. Kawasubstanzen vom Dienolidtypus sind dagegen pharmakodynamisch nur wenig aktiv, ihr Wirkungsspektrum ist enger.

Tabelle 1: Pharmakologische Wirkungen der Kawapyrone nach Angaben der Literatur

	DHM	DHK	M	K	Y	DMY	Literatur
Sedation	+++	+++	(++)	(++)	(+)	-	HÄNSEL u. BEIERSDORFF, 1959; KLOHS, KELLER et al., 1959; MEYER, 1962; FURGIUELE et al., 1962a; KRETZSCHMAR u. MEYER, 1965a
Narkose-potenzierung	+++	++	0	0	0	0	KLOHS, KELLER et al., 1959; MEYER, 1962
Antikonvulsive Wirkung	++	++	+++	(+++)	+	+	KLOHS, KELLER et al., 1959; MEYER u. MEYER-BURG, 1963; 1964; MEYER u. DIERSTEIN, 1965; KRETZSCHMAR u. MEYER, 1965a; 1965b; MEYER u. KRETZSCHMAR, 1966
Spasmolytische Wirkung	++	0	0	0	0	0	MEYER, 1965a
Lokalanaesthesie	++	+++	++	+++	-	0	MEYER u. MAY, 1964; MAY u. MEYER, 1965
Antiphlogistische Wirkung	++	++	++	+++	++	+	MEYER, 1965b
Antipyretische Wirkung	++	++	++	++	+	0	MEYER, 1965b
Analgesie	+	++	0	0	0	0	BRÜGGEMANN u. MEYER, 1963
Muskelrelaxation	++	0	(+)	++	0	0	MEYER u. KRETZSCHMAR, 1966

+++ = starke Wirkung, vergleichbar mit gebräuchlichen Therapeutika

++ = mittlere Wirkung

\+ = schwache Wirkung

( ) = ungenaue Angaben in der Literatur

\- = keine Wirkung

0 = nicht untersucht

3. Gegenüberstellung von tierexperimentellen Befunden und ethnopharmakologischen Angaben

Vergleicht man die Kawawirkungen am Menschen mit den im Tierexperiment gefundenen Effekten einzelner Kawapyrone, dann stellt man in verschiedenen Punkten Übereinstimmung oder Parallelen fest:

Vor allem die sehr charakteristische Hauptphase der Kawawirkung, nämlich starke Sedation, verbunden mit einer fortschreitenden Lähmung der willkürlichen Muskulatur bei weitgehender Erhaltung des Bewußtseins, läßt sich auch nach Applikation von Kawapyronen an Labortieren in ganz ähnlichem Verlauf beobachten (s. Abschnitte a, b, c, d, h des Kapitels IV. 2: "Tierexperimentelle Untersuchungen").

Auch Analgesie, Lokalanaesthesie und Vomitus sind Erscheinungen, die sowohl am Menschen nach Genuß des Kawatrankes, als auch bei Versuchstieren nach Behandlung mit Kawapyronen auftreten (s. Abschnitte e, g, i des Kapitels IV. 2).

Man kann daher mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß diese Effekte des Kawatrankes in der Hauptsache auf seinem Gehalt an Kawapyronen beruhen. Die volksmedizinische Anwendung von Kawa als Schlaf- und Beruhigungsmittel, als Analgeticum und Lokalanaestheticum sowie als Entspannungsmittel für überanstrengte und verkrampfte Muskeln erscheint aus dieser Sicht als durchaus zweckmäßige und sinnvolle Therapie.

Die Deutung eines Teiles der am Menschen beobachteten Kawasymptome mit Hilfe tierexperimenteller Ergebnisse kann im gegenwärtigen Stadium der Kawaforschung jedoch nur in qualitativer Hinsicht gelten, ist also nur auf die Art der Effekte, nicht aber auf ihre Höhe anwendbar. Es muß in Rechnung gestellt werden, daß dem obigen Vergleich recht verschiedenartige Bezüge zugrunde liegen: Auf der einen Seite die Wirkung am Menschen als Folge eines oral eingenommenen wäßrigen Gesamtextraktes, auf der anderen Seite Wirkungen an Tieren nach (zumeist) intraperitoneal applizierten öligen Lösungen einzelner Reinstoffe.

Eine eindeutige Klärung der quantitativen Seite des Problems ist erst möglich, wenn weitere Untersuchungen gemacht werden, die uns genaue Aufschlüsse geben über die beim Kawatrinken aufgenommenen Pyronmengen, über die Resorptionsquoten der Kawasubstanzen aus dem Magen-Darmtrakt, über synergistische Effekte der Inhaltsstoffe, über das Schicksal der Kawapyrone im Organismus u. s. w.

Die angeschnittenen Fragen hängen alle mit den Problemen Ganzdroge - Reinstoff sowie Resorption - Wirkung zusammen, die regelmäßig als Schwierigkeiten bei jeder pharmakologisch-phytochemischen Forschung auftreten.
Im Falle der Kawadroge ergaben sich aus der geringen Wasserlöslichkeit und aus der chemischen Inertheit der enthaltenen Pyrone besondere Hindernisse. Wie im Kapitel IV. 2 a , "Sedation" angedeutet wurde, gelang es LEWIN (1886) zwar mit lipophilen Auszügen eine Reihe von Kawasymptomen im Tierversuch auszulösen, doch erwiesen sich oral applizierte, kristalline Inhaltsstoffe als unwirksam, obwohl sie (wie wir heute wissen) durchaus aktiv sind, wenn sie in geeigneter Form verabreicht werden.
Ähnlich erging es BORSCHE (1914-1933), der zwar einen der hauptsächlich wirksamen Kawastoffe, das DHK, isolierte, aber die Bedeutung dieses Fundes nicht erkannte, weil ihm zureichende Applikationsmethoden fehlten.
Selbst in neuester Zeit ergaben sich dazu Parallelen:
KLOHS et al. (1959) sowie MEYER (1962), die unabhängig voneinander das DHK auf narkosepotenzierende Eigenschaften prüften, kamen aufgrund unterschiedlicher Applikationsarten (10 % Tweensuspension oral bzw. 5 %ige ölige Lösung intraperitoneal) zu stark differierenden Ergebnissen. Daraus geht deutlich hervor, wie sehr die Wirksamkeit der Kawapyrone von ihrer Resorptivität abhängt.

VAN VEEN (1939) muß der Verdienst zugesprochen werden, durch die Emulgierung kristalliner Kawastoffe einen Weg für ihre pharmakologische Prüfung gewiesen zu haben. Die Weiterentwicklung dieser

Methode durch HÄNSEL und BEIERSDORFF (1959), welche erstmalig ölige Lösungen von Kawapyronen im Tierversuch anwandten, ermöglichten in der Folge die tierexperimentellen Untersuchungen MEYERs u. Mitarb. (1960-1966). Sie stellen in ihrer umfangreichen Form die genauesten Arbeiten zur pharmakologischen Seite des Kawaproblems dar und haben wahrscheinlich gemacht, daß der größte Teil der auftretenden Symptome auf die Effekte der Kawalactone zurückgeht. Demgemäß bleiben nur wenige Kawawirkungen übrig, für deren stoffliche Ursachen bisher noch keine Angaben vorliegen.
Es sind folgende Erscheinungen:

1. Abmagerung; soweit sie nicht schon aus dem bereits nachgewiesenen Vomitus (s. Abschnitt i des Kapitels IV. 2) zu erklären ist, der sekundär zu vermindertem Appetit und damit zur allmählichen Herabsetzung des Körpergewichtes führen könnte.
2. Hautveränderungen
3. Tonisierende Effekte
4. Heilwirkung gegenüber Infektionen der Haut sowie des Urogenitaltraktes.

Die Punkte 1 und 2 sind Folgen chronischen Kawagebrauches und wurden, vielleicht aus methodischen Gründen (wegen der nötigen langen Versuchsdauer), noch nicht bearbeitet.

Tonische Effekte (Punkt 3) sind der Kawadroge mit Sicherheit eigen, denn sie wurden von SCHÜBEL (1924) noch bei lipophilen Kawaextrakten deutlich nachgewiesen. Hunde, denen er Kawaharz s.c. oder oral verabreichte, zeigten im ersten Stadium der Wirkung "zerebrale Erregung ... und motorische Unruhe". Auch an glattmuskeligen Organpräparaten (menschl. Uterus, Regenwurmpräparat) verursachte Kawaharz in geringer Konzentration Erregung, in höherer Dosis Lähmung (s. Abschnitt d des Kapitels IV. 2).

In einem Versuch mit dem MOSSOschen Ergographen wurde auch am Menschen festgestellt, daß nach Aufnahme von Kawaharz "die Leistungsfähigkeit erheblich gesteigert wird". Im Gegensatz zu den Extrakten hatten reine Kawapyrone keinerlei anregende Wirkung im niederen Dosenbereich: Entsprechende Versuche MEYERs (1962) mit dem DHM waren nicht erfolgreich. Es konnte lediglich ein geringfügig verstärkender Einfluß niedriger DHM-Konzentrationen auf die Bemegrid- und Pentetrazolkrämpfe (s. Abschnitt c des Kapitels IV.2) sowie eine Tonussteigerung durch sehr hohe DHM- bzw. DHK-Dosen an Hunden und Katzen beobachtet werden (s. Abschnitt i 2 des Kapitels IV.2).

Mit dem Punkt 4 beschäftigt sich im folgenden diese Arbeit.

4. Bisherige Untersuchungen über antimikrobielle Eigenschaften des Kawarhizoms

Eine gründliche Untersuchung des Kawarhizoms auf antimikrobielle Eigenschaften ist unseres Wissens bisher nicht erfolgt.
Trotzdem finden sich in der Literatur zahlreiche Hinweise, die von einer antibakteriellen Aktivität des Kawaharzes bzw. des Kawains wissen wollen (FLOREY et al., 1949 ; VELDSTRA und HAVINGA, 1943/45; WINTER, 1953). Zum Teil handelt es sich dabei um rein spekulative Schlüsse, die von der volksmedizinischen Anwendung als Antigonorrhoicum ausgehend gezogen wurden. Häufig findet man aber auch in den Literaturangaben den Hinweis auf eine Arbeit von LECLERC (1937), in der man folgendes lesen kann: "Aus Forschungen, die um 1905 von MARPMANN unternommen wurden, geht außerdem hervor, daß das Harz von Kawa-Kawa sehr stark ausgeprägte, bakterizide Eigenschaften besitzt, insbesondere gegen den Gonokokkus, wobei eine Lösung von 1 : 100 auf die Mitte der Kultur gegeben, die Entwicklung verhindert. Sie (die Lösung) zeigte sich, was die Colibakterien anbetrifft, ebenfalls sterilisierend."

Weitere Untersuchungen fehlen anscheinend.
Einige Angaben werden nur noch im Zusammenhang mit der klinischen Erprobung verschiedener Industriepräparate gemacht, welche als Antigonorrhoica deklariert werden und, neben dem Hauptbestandteil Sandelholzöl, auch Kawaharz enthielten (LEJEUNE, 1905; SAAR, 1905; SCHINDLER und SIEBERT, 1906).

V. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Hauptteil

1. Bakteriologische Versuche

1.1 Prüfung der Ganzdroge auf antibakterielle Wirkung

a) Lochplattentest

Von den zahlreichen Methoden, mit denen pflanzliche Materialien auf antibakterielle Eigenschaften geprüft werden können (KÖHLER, 1956), wurde der Lochplattentest für erste orientierende Versuche ausgewählt. Er ist in seiner Handhabung besonders einfach und erfordert keine Sterilisation des Drogenmaterials, wodurch eine mögliche Hitzeinaktivierung evtl. vorhandener Wirkstoffe vermieden wird.

Mit Hilfe dieses Tests untersuchten wir die Wirkung von Kawapulver auf das Wachstum einer Reihe von pathogenen und apathogenen Bakterienarten. Dazu wurden aus fertig gegossenen Agarplatten, die kurz vorher mit der betreffenden Keimart beimpft worden waren, Löcher ausgestanzt und mit Drogenpulver gefüllt, welches wir anschließend befeuchteten, um eine Diffusion von Inhaltsstoffen in den Agar zu ermöglichen. Nach entsprechender Bebrütung wurden die Platten auf eine Hofbildung (vermindertes oder ausgebliebenes Bakterienwachstum) um die mit Droge gefüllten Löcher kontrolliert.

Folgende Organismen dienten als Testkeime:

Escherichia coli
Staphylococcus aureus SG 511 Berlin
Pseudomonas aeruginosa
Proteus vulgaris 0X 19
Salmonella typhi 10
Salmonella typhi murium
Shigella sonnei
Shigella flexneri
Streptococcus agalactiae
Str. liquefaciens

Str. salivarius
Cloaca cloacae
Serratia marcescens
Sarcina lutea
Aerobacter aerogenes
Vibrio Finkler
Klebsiella Kaufmann
Bacillus cereus
Bac. anthracis
Bac. subtilis
Neisseria catarrhalis

Ergebnis:

Nur bei Bacillus subtilis und Neisseria catarrhalis konnten Hemmhöfe von etwa 2-5 mm Breite festgestellt werden, woraus eine schwache wachstumshemmende Wirkung diesen beiden Keimen gegenüber hervorgeht. Alle anderen Organismen dieser Versuchsreihe blieben unbeeinflußt und wiesen normales Wachstum bis an den Rand der Löcher auf.
Versuche mit Neisseria gonorrhoeae, die im Hinblick auf die ethnologische Verwendung der Kawa als Antigonorrhoicum besonders interessant erschienen, schlugen fehl. Mehrere frisch isolierte Stämme wuchsen in vitro auch unter optimalen Bedingungen (Kochblutplatten, angereicherte CO_2-Atmosphäre etc.) nur so schwach, daß eine Testung nicht möglich war.

b) Andere Testmethoden

Der in den Vorversuchen benutzte Lochplattentest spricht vor allem auf antibakterielle Substanzen an, die hydrophilen Charakter haben und leicht aus der Droge in den Agar diffundieren. Solche Prinzipien sind demnach in der Kawadroge nicht enthalten. Der Test erfaßt jedoch nicht lipophile Stoffe mit sehr geringer Diffusionsfähigkeit in

wäßrigem Milieu.
Da die bisher isolierten Kawainhaltsstoffe schwer wasserlösliche Verbindungen sind, blieb die Möglichkeit bestehen, daß diese, obwohl vielleicht wirksam, durch die obige Versuchsanordnung in zu geringer Menge in den Nährboden diffundierten, um noch einen Effekt hervorzurufen. In diesem Fall sollte eine direkte Verteilung des Drogenpulvers im Agar ein besseres Ergebnis liefern, weil die Bakterien dann in direkten Kontakt mit der Droge kommen.

Zu diesem Zweck wurde sterilisiertes Drogenpulver unter aseptischen Bedingungen in verflüssigten Agar eingerührt. Nach dem Erstarren wurden die Nährböden dann beimpft und bebrütet.

Ein noch empfindlicheres Verfahren wurde parallel dazu angewandt: Ausgehend von der Überlegung, daß in einer Flüssigkeitskultur die Bakterien allseitig vom wirkstoffgesättigten Medium umgeben sind und dadurch auch auf geringste Konzentrationen wachstumshemmender Stoffe reagieren müßten, stellten wir uns konzentrierte Auszüge der Kawadroge her mit Nährbouillon als Extraktionsmittel. Für diese Versuchsreihe wurde Fleischbouillon mit Kawapulver einige Zeit erhitzt, nach dem Abkühlen dann zentrifugiert und sterilisiert. Von den erhaltenen, klaren Bouillon-Drogenauszügen wurden Verdünnungsreihen mit den Stufen 1 : 1, 1 : 2 , 1 : 4 , 1 : 8 angelegt, die mit den Testkeimen inokuliert und bebrütet wurden.
Als Testorganismen dienten in beiden Versuchsanordnungen die beim Lochplattentest eingesetzten Arten mit Ausnahme der Streptokokken und des Neisseria catarrhalis-Stammes.

Ergebnis:

In beiden Versuchen wurde von allen Testkeimen nur Bacillus subtilis durch Kawa beeinflußt. Auf den Festnährböden, die die Droge fein verteilt enthielten, zeigte Bac. subtilis verglichen mit einer Normalkultur ein etwa um die Hälfte vermindertes Wachstum.

Im unverdünnten Bouillon-Drogenauszug hatte sich Bac. subt. nicht vermehrt (Bakteriostase), was durch Subkulturen gesichert werden konnte. Die 1. Verdünnungsstufe (1:1) war jedoch wieder deutlich bewachsen (etwa halb so stark wie normal), die folgenden Stufen ab Verdünnung 1 : 2 zeigten vollkommen normales Wachstum.

1.2 Prüfung der Reinstoffe auf antibakterielle Wirkung

Trotz der wenig ermutigenden Ergebnisse der Ganzdrogenversuche wurden zur Sicherheit auch die bisher bekannten Inhaltsstoffe auf antibakterielle Wirkung untersucht. Damit sollte direkt die Angabe von FLOREY, CHAIN et al. (1949) überprüft werden, die Kawain als eine "antibiotische" Substanz aus höheren Pflanzen aufführen. Zugleich wollten wir feststellen, ob der bakteriostatische Effekt gegenüber Bac. subt. von einer der bereits isolierten Kawasubstanzen hervorgerufen wird.

Da ausreichende Konzentrationen unserer schwer wasserlöslichen Testsubstanzen in den Nährmedien weder durch Lösungsvermittler (Tween 20, Tween 80, Polyäthylenglykole), noch durch organische Lösungsmittel (Aceton, Methanol, Propylenglykol, Dimethylformamid) zu erreichen waren, und da wir außerdem eine Beeinflussung des Bakterienwachstums durch Tweens und Lösungsmittel befürchten mußten (OLBERG, 1958; BOLLE u. MIRIMANOFF, 1950), entschieden wir uns für die folgenden zwei Testverfahren:

a) Papierblättchentest nach MORLEY (1945)
Er ist, laut KÖHLER (1956), besonders zur Testung wasserschwerlöslicher Verbindungen geeignet. Wir lösten unsere Prüfsubstanzen in Chloroform, tropften die Lösung auf Papierblättchen, welche nach dem Verdunsten des Lösungsmittels auf vorher beimpfte Agarplatten aufgelegt wurden. Nach Bebrütung wurden die Platten auf eine Hemmhofbildung um die Filterpapierstückchen kontrolliert.

b) Methode nach RAMMELKAMP (1942)
Die Substanzen wurden mit heißer Nährbouillon geschüttelt, so daß gesättigte Lösungen entstanden, die nach Abkühlen auf Raumtemperatur beimpft und anschließend bebrütet wurden.

Folgende Substanzen prüften wir mit Hilfe dieser beiden Methoden:

Yangonin	nat.
11-Methoxyyangonin	synth.
5, 6-Dehydrokawain	synth.
Methysticin	nat.
7, 8-Dihydromethysticin	nat.
Kawain	nat.
7, 8-Dihydrokawain	nat.
5, 6, 7, 8-Tetrahydroyangonin	teilsynth.
Flavokawin A + B (Mischung)	nat.

Testorganismen innerhalb Methode a) waren die beim Lochplattentest eingesetzten Arten, während für Methode b) die gleiche Auswahl mit Ausnahme der Streptokokken und des Neisseria catarrhalis-Stammes diente.

Ergebnis:

Methode a)
Es entstanden in keinem Fall (auch nicht bei Bac. subt.) Hemmhöfe um die Filtrierpapierstückchen.

Methode b)
Kawain-gesättigte Bouillon-Kulturen der Keime Escherichia coli und Staphylococcus aureus zeigten als einzige eine Verminderung der Keimzahl um ca. 3 Zehnerpotenzen gegenüber den vergleichsweise angesetzten Normalkulturen. Bei Testung einer Mischung aller Substanzen wurde das gleiche Ergebnis erzielt.
Die Bac. subt.-Kulturen wurden in ihrem Wachstum von keiner der

geprüften Substanzen beeinträchtigt.

2. Versuche mit Pilzen

2.1. Prüfung der Ganzdroge auf antimyzetische Wirkung

Im 2. Teil der vorliegenden Arbeit sollte die Kawadroge auf antimyzetische Eigenschaften überprüft werden.

Als einfache Testmethode, die zugleich der geringen Diffundierbarkeit der lactonischen Inhaltsstoffe im wäßrigen Milieu Rechnung trägt, bot sich ein Verfahren an, das bereits bei den bakteriologischen Versuchen angewandt worden war: Direkte Verteilung der pulverisierten und sterilisierten Droge im Nährboden; darauf dann Beimpfung mit dem entsprechenden Testorganismus.

Schon in Vorversuchen konnten wir feststellen, daß Sporen und Hyphen zweier zufälliger Laborinfektionen (nicht näher bestimmte Penicillium- bzw. Mucorart) auf kawahaltigen Nährböden nicht anwuchsen.
Um zu überprüfen, inwieweit diese Beobachtung zu verallgemeinern ist, testeten wir zunächst 10 Pilzarten (darunter Schimmelpilze, Dermatophyten und Hefen) sowie 2 Streptomyzetenarten auf ihre Reaktion gegenüber Kawapulver. Es zeigte sich, daß alle Testorganismen bei einer Konzentration von 0,05 g Droge /ml Nährboden stark gehemmt wurden, so daß keinerlei makroskopisch sichtbares Koloniewachstum erfolgte.

Durch Kulturversuche auf Nährböden mit fortlaufend verringertem Gehalt an Droge untersuchten wir daraufhin die Intensität der Wirkung, d.h. wir stellten fest, welche Grenzkonzentration gerade noch das Wachstum der einzelnen Stämme unterdrückte (s. Tabelle 2).
Mit einer Drogenkonzentration von 0,05 g /ml Nährboden wurde außerdem ein "screening" vorgenommen, das sich über ein weites Spektrum von Pilzarten erstreckte (s. Tabelle 3).

Tabelle 2: Die Intensität der antimyzetischen Wirkung von Kawapulver: Grenzkonzentrationen totaler Wachstumshemmung für einige Pilz- und Streptomyzetenarten

Drogenkonzentration: in g/ml Nährboden

Trichothecium roseum		0,05
Stemphylium macrosporoideum		0,03
Penicillium funiculosum	fak.path. +)	0,02
Alternaria humicola		0,008
Streptomyces griseus		0,005
Cryptococcus neoformans	path. ++)	0,005
Trichophyton tonsurans	path.	0,005
Streptomyces purpurescens		0,005
Paecilomyces varioti		0,0035
Aspergillus niger	fak.path.	0,003
Chaetomium globosum		0,003
Trichophyton ferrugineum	path.	0,001

+) = fakultativ pathogen

++) = pathogen

Tabelle 3: Reaktion verschiedener Pilzarten auf eine Drogenkonzentra- von 0,05 g Kawapulver / ml Nährboden

+++ = vollständige Wachstumshemmung bei der angegebenen Drogenkonzentration

++ = starke Wachstumsverringerung

\+ = schwache Wachstumsverringerung

\- = normales Wachstum (keinerlei Beeinflussung)

Tabelle 3, Fortsetzung

Absidia corymbifera	path.[++)]	+++
Absidia glauca (+ und - Form)		+++
Aleurisma spec.	path.	+++
Allescheria boydii	path.	+++
Aspergillus amstelodamii		+++
Asp. echinulatus		+++
Asp. flavus		+
Asp. fumigatus	path.	++
Asp. nidulans	path.	+++
Asp. ochraceus		+
Asp. oryzae		++
Asp. repens		+++
Asp. sydowii		+++
Asp. tamarii		+
Asp. ustus		++
Asp. versicolor		+++
Asp. wentii		+
Botrytis cinerea		+
Candida albicans	path.	-
Cand. brumptii		+
Cand. krusei		-
Cand. parakrusei		-
Cand. parapsilosis		-
Cand. solani		-
Cand. tropicalis	path.	-
Cladosporium herbarum		+++
Clad. werneckii	path.	+

++) = pathogen

Tabelle 3, Fortsetzung

Cunninghamella echinulata		+++
Fusarium solani		-
Geotrichum candidum	path.	-
Keratinomyces ajelloi	path.	+++
Microsporum canis	path.	+++
Micr. equinum		+++
Micr. fulvum		+++
Micr. gypseum	path.	+++
Micr. van breuseghemi		+++
Mortierella reticulata		+++
Mucor ramannianus		+++
Penicillium brevi-compactum		+++
Pen. chrysogenum		++
Pen. citrinum		+++
Pen. claviforme		+
Pen. notatum		+++
Pen. oxalicum		++
Pen. piceum		+++
Pen. roqueforti		++
Phialophora jeanselmei		+++
Phial. pedrosoi	path.	+++
Phial. verrucosa	path.	+++
Phycomyces blakesleanus (+ und - Form)		+++
Pichia fermentans		+
Pich. membranaefaciens		+
Polystictus versicolor		+++
Rhizopus nigricans		+++
Saccharomyces cerevisiae		+
Sacch. fragilis		-
Sacch. ludwigii		+

Tabelle 3, Fortsetzung

Scopulariopsis brevicaulis	path.	+
Sporotrichum schenckii	path.	+++
Syncephalastrum racemosum		+++
Thamnidium elegans		+++
Torulopsis glabrata		+
Trichoderma viride		+
Trichophyton granulosum		+++
Trich. megninii		+++
Trich. mentagrophytes var. granulosum	path.	+++
Trich. rodhaini		+++
Trich. rosaceum		+++
Trich. rubrum		+++
Trich. sulfureum	path.	+++
Trich. terrestre		+++

Aus den Tabellen 2 und 3 geht hervor, daß die Kawadroge gegenüber einer großen Zahl von Schimmelpilzen und auch auf die beiden geprüften Streptomyzetenarten wachstumshemmend wirkt.
Die pathogenen Hautpilze der Gattungen Microsporum, Trichophyton und Sporotrichum werden eindrucksvoll gehemmt, ebenso wie ubiquitär vorkommende Vertreter der Gattungen Mucor, Rhizopus, Aspergillus, Penicillium u.v.a. Allerdings ist das Bild bei den letzten beiden Gattungen uneinheitlich, da neben zahlreichen, stark beeinflußbaren Arten (Aspergillus niger, A. amstelodamii und A. echinulatus, Penicillium notatum, P. citrinum u.a.) auch einige, nur schwach reagierende Arten gefunden wurden (Asp. flavus, A. ochraceus, A. tamarii und Pen. claviforme).

Weitgehend einheitlich ist dagegen die Reaktion der meisten geprüften

hefeartigen Organismen, die von Kawapulver kaum oder gar nicht gehemmt werden. Vor allem Candida-arten wachsen praktisch normal, ebenso wie Geotrichum candidum, während einige Saccharomyces-, Pichia- und Torulopsis-arten schwach beeinflußt werden.

Eine Ausnahme innerhalb der hefeartigen Organismen macht dagegen der hochpathogene Cryptococcus neoformans, der in unseren Versuchen bei einem Gehalt von 0,005 g Droge / ml noch keinerlei Wachstum zeigte.
Die stärkste Hemmung wies der pathogene Hautpilz Trichophyton ferrugineum auf, der bereits durch eine Drogenkonzentration von 0,001 g / ml kein Mycel mehr auszubilden vermochte.

2.2 Prüfung der Reinstoffe auf antimyzetische Wirkung

Im weiteren war zu prüfen, ob die bisher bekannten Inhaltsstoffe der Kawadroge an der antifungalen Wirkung beteiligt seien.
Da uns nur geringe Mengen der Reinsubstanzen zur Verfügung standen, nahmen wir diese Versuche an einer einzigen Pilzart vor. Wir wählten dafür einen definierten Stamm aus, der bei guter Ansprechbarkeit auf das Inhibitionsmittel möglichst wenig pathogen und gut kultivierbar sein sowie ein gut wahrnehmbares Wachstum aufweisen sollte. Diesen Ansprüchen genügte in hervorragender Weise Aspergillus niger ATCC 6275, ein Stamm, der gut sporuliert, kaum zur Mutantenbildung neigt und durch die schwarze Farbe seiner Konidiosporen leicht im Wachstum zu beobachten ist.

2.3 Ausarbeitung einer neuen Testmethode zur Prüfung schwer wasserlöslicher Substanzen auf antimyzetische Wirkung

Die Wahl einer geeigneten Testmethodik war bei der bekannten Wasserunlöslichkeit der Inhaltsstoffe schwierig, zumal die Anwendung von Lösungsvermittlern oder organischen Lösungsmitteln nach unseren Erfahrungen aus den bakteriologischen Versuchen wenig Erfolg versprach. Wir versuchten daher, die Testsubstanzen im Nährboden mög-

lichst fein zu dispergieren, um eine hohe Diffusionsrate zu erzielen. Da uns ein Mikronisator nicht zur Verfügung stand, entschieden wir uns für das Verfahren, unsere Testsubstanzen aus einer Lösung in organischem Lösungsmittel an einen feinpulverigen Trägerstoff zu adsorbieren und diesen dann im Agar zu verteilen. In Vorversuchen ermittelten wir, welcher Trägerstoff sich für diese Zwecke am besten eignete. Er sollte eine große Oberfläche (Volumen) besitzen, mit Wasser gut benetzbar sein, langsam sedimentieren und die adsorbierten Stoffe nicht zu fest binden. Unsere Anforderungen erfüllte am besten eine Mischung aus 2 Teilen Polyacrylnitril und 1 Teil Kieselgur, von der nach dünnschicht- und säulenchromatographischen Erfahrungen nur eine lockere Adsorption der Kawastoffe zu erwarten war (s. Tabelle 4).

Tabelle 4: Eigenschaften einiger neutraler Pulversubstanzen im Hinblick auf die Eignung als Trägerstoff

	"Schüttvolumen" (ml/g)	Mischbarkeit mit flüssigem Nährboden	Sedimentationsgeschwindigkeit
Talkum	klein ca. 1,03	sehr schlecht: bildet Blasen und Klumpen; erst nach längerem Rühren einzuarbeiten. "wasserabstoßend"	langsam
Bolus	mittel ca. 1,57	schlecht: neigt zu Klumpenbildung	sehr schnell
Kieselgur	groß ca. 2,78	gut: ohne Klumpen "wassersaugend"	schnell
Polyacrylnitril	sehr groß ca. 3,74	gut: ohne Klumpen	langsam

Wir gingen nun so vor, daß der Trägerstoff mit organischen Lösungen unserer Teststoffe imprägniert und in flüssigem Agar verteilt wurde. In die Mitte einer erstarrten Agarplatte impften wir anschließend punktförmig etwas Sporensuspension unseres Teststammes, die eine bestimmte, durch Auszählung ermittelte Menge von Sporen enthielt. Im Falle eines ungehemmten oder teilweise gehemmten Wachstums entwickelt sich radial von der Impfstelle ausgehend eine runde Makrokolonie, deren Zuwachs in der Zeiteinheit gemessen werden kann. Mit den erhaltenen Werten lassen sich Wachstumskurven zeichnen, aus denen nach Vergleich mit der Normalkurve die Reaktion des Pilzes auf Art und Menge der zugesetzten Substanzen ablesbar ist. Bei vollständiger Hemmung entsteht an der Impfstelle selbstverständlich keinerlei Pilzwachstum.

Die folgenden Abbildungen zeigen die Wachstumskurven von Aspergillus niger unter dem Einfluß der einzelnen Kawa-Substanzen. Sie beruhen auf Mittelwerten, die meist aus 10 Versuchen gewonnen wurden. Zum Vergleich ist jeweils die Normalwachstumskurve eingezeichnet.

Die Werte der Normalwachstumskurve wurden als das arithmetische Mittel der Zuwachsraten von Pilzkolonien errechnet, die unter sonst gleichen Bedingungen auf Nährböden mit r e i n e m Trägerstoff (anstelle des Adsorbates) wuchsen.

Abbildung 2: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von natürlichem Yangonin und Methysticin

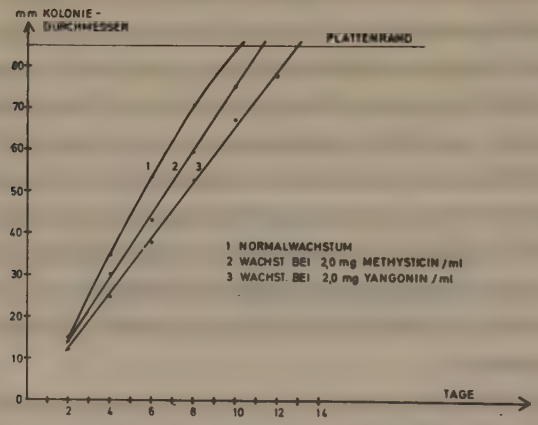


Abbildung 3: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von natürlichem und synthetischem DHM verschiedener Konzentrationen

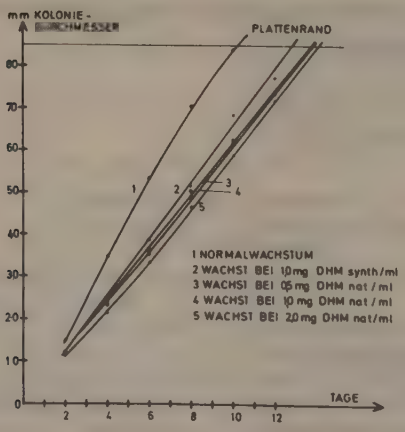


Abbildung 4: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von natürlichem Kawain

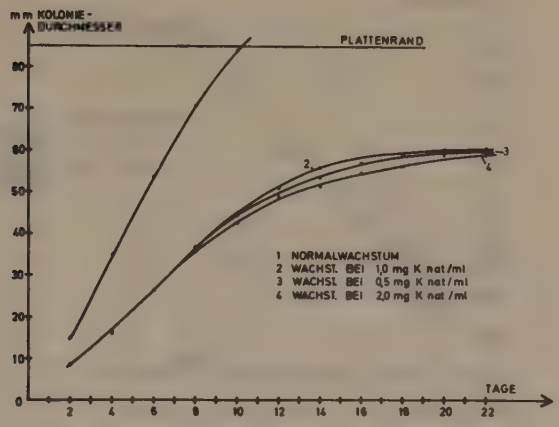


Abbildung 5: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von synthetischem Kawain

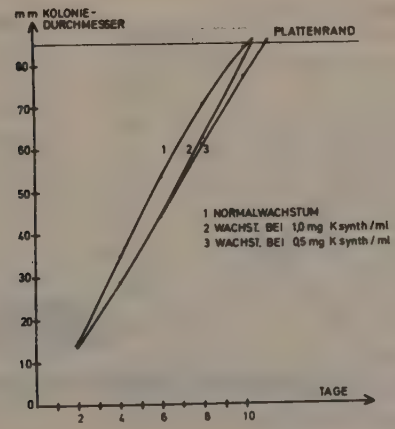


Abbildung 6: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von Desmethoxyyangonin und 11-Methoxyyangonin

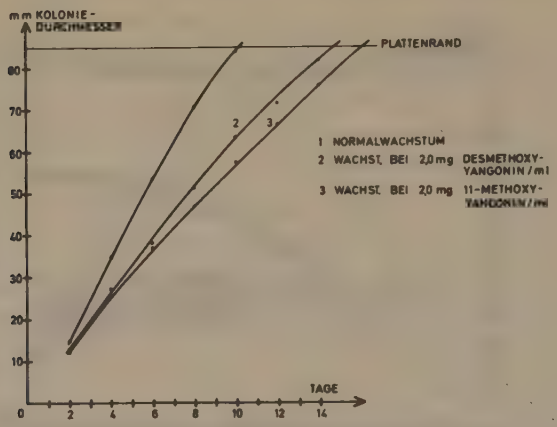


Abbildung 7: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß verschiedener Konzentrationen DHK nat. im Grenzbereich der Hemmung

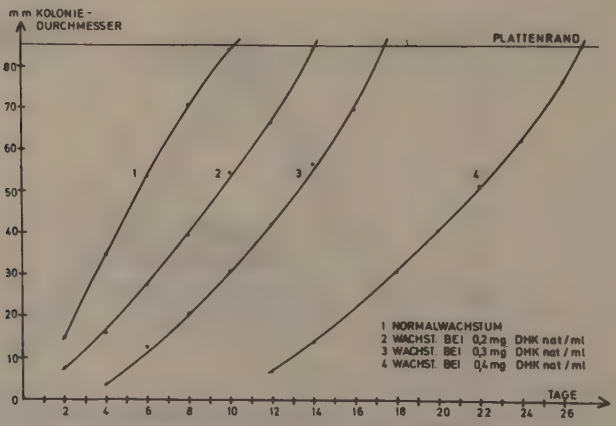


Abbildung 8: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß der Flavokawine A + B

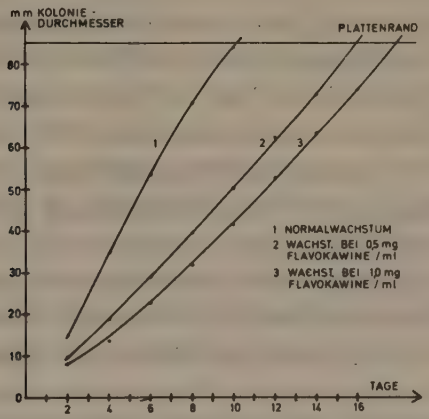
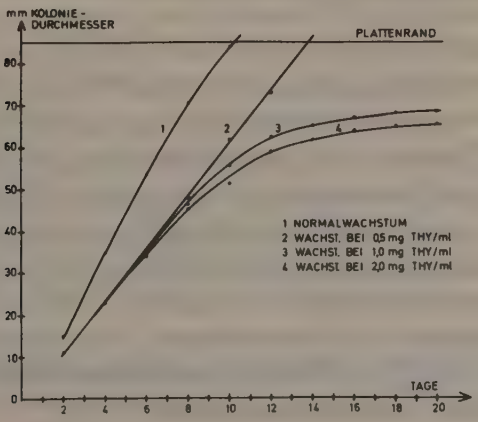


Abbildung 9: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von THY teilsynth.



Ergebnis:

Methysticin und Yangonin beeinflussen selbst in Dosen von 2 mg/ml nur unwesentlich das Wachstum unseres Testpilzes. Sie führen lediglich zu einer geringfügigen Verzögerung der Wachstumsgeschwindigkeit: Die voll ausgewachsene Makrokolonie erreicht etwa 2 bis 3 Tage später als normal den Plattenrand (s. Abb. 2). Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den geprüften DHM-Konzentrationen (0,5, 1,0 und 2,0 mg/ml), durch die die Pilzkultur den Plattenrand etwa 3 bis 4 Tage später erreicht. Synthetisches DHM, das vergleichsweise in den Tests mitlief, unterschied sich darin nicht von natürlichem DHM (s. Abb. 3). Ebenfalls nur wenig Einfluß übten synthetisches Desmethoxy- und synthetisches 11-Methoxy-yangonin in der Konzentration von 2 mg/ml aus, durch die die Kultur gegenüber den Normalwerten 4 bzw. 5 Tage länger brauchte, um bis an den Rand der Petrischale zu wachsen (s. Abb. 6). Durch eine Mischung von Flavokawin A und B in einer Dosis von 0,5 mg/ml wurde der Plattenrand 6 Tage, bei einer Dosis von 1,0 mg/ml 8 Tage später erreicht (s. Abb. 8).
Durch alle erwähnten Substanzen ist also in den untersuchten (relativ hohen) Konzentrationen lediglich eine Verlangsamung der Wachstumsgeschwindigkeit zu beobachten, nicht aber ein Wachstumsstop oder gar ein Ausbleiben jeglichen Wachstums.

Anders liegt der Fall bei halbsynthetischem THY (s. Abb. 9): Während die Konzentration 0,5 mg/ml zwar noch ebenfalls zu einer Verlangsamung des Koloniewachstums führt (vergleichbar etwa mit der von 2 mg/ml Yangonin), wird durch die doppelte und vierfache Konzentration THY das Pilzwachstum eindeutig gehemmt: Nachdem etwa die Hälfte der in der Petrischale möglichen Wuchsstrecke erreicht ist, verlangsamt sich das Wachstum merklich, um nach einem weiteren Viertel der Strecke gänzlich zu stagnieren. Dabei verhalten sich die Wachstumskurven der Konzentrationen 1,0 mg/ml und 2,0 mg/ml praktisch gleich, so daß eine Hemmung proportional der verdoppelten Konzentration nicht einzutreten scheint.

Eine noch mehr ausgeprägte Hemmwirkung ist bei natürlichem, rechtsdrehendem Kawain festzustellen: In allen 3 untersuchten Konzentrationen (0, 5,1, 0 und 2, 0 mg/ml) kommt es nach einer Verlangsamung des Koloniewachstums zu einem Wachstumsstop nach etwa zwei Drittel der erreichbaren Wuchsstrecke. Auffällig ist auch hier, daß die Erhöhung der Konzentration auf das Doppelte bzw. das Vierfache keine Änderung des Kurvenverlaufs zu bewirken scheint (s. Abb. 4). Im Gegensatz zu natürlichem Kawain hatte synthetisch gewonnenes auch in Dosen von 2, 0 mg/ml keinen Einfluß auf das Pilzwachstum und führte zu einer normalen Wachstumskurve (s. Abb. 5). Dieses Verhalten ist erstaunlich, da ja die synthetische Verbindung als Racemat 50 % rechtsdrehendes Kawain enthält, das ebenfalls zu einer Wachstumshemmung führen müßte. Eine Erklärung für dieses Phänomen konnte bis jetzt nicht gefunden werden.
Die stärkste antimyzetische Aktivität aller untersuchten Substanzen übte das DHK aus, das als einzige Verbindung im bisher geprüften Konzentrationsbereich jegliche Koloniebildung bei Aspergillus niger verhinderte. Bei Dosen von 2, 0, 1, 0 und 0, 5 mg/ml wurde an der Impfstelle im gesamten Beobachtungszeitraum (28 Tage) kein Mycel ausgebildet. Erst unterhalb 0, 5 mg/ml DHK setzte wieder Wachstum ein: Bei einer Dosis von 0, 4 mg/ml wurde mit einer Verzögerung von 10 Tagen das erste Mycel gebildet, das dann aber mit rasch größer werdenden Geschwindigkeit bis an den Plattenrand heranwuchs. Bei der Konzentration von 0, 3 mg/ml begann ein Mycel bereits nach 2 Tagen zu wachsen, und bei einem Gehalt von 0, 2 mg/ml entstand gleichzeitig mit der Normalkultur eine Pilzkolonie, die nur noch geringfügig in der Wachstumsgeschwindigkeit verlangsamt war (s. Abb. 7). Synthetisches DHK rief in den untersuchten Konzentrationen 0, 5 und 0, 2 mg/ml die gleichen Effekte hervor wie die natürliche Verbindung.

Um einen Wirkungsvergleich zu erhalten, testeten wir in unserer Versuchsanordnung auch die Dehydracetsäure, die industriell als Konser-

vierungsmittel gegen Bakterien- und Schimmelpilzbefall eingesetzt wird. Wir stellten dabei fest, daß die antimyzetische Wirkung des DHK quantitativ fast genau derjenigen der Dehydracetsäure entspricht. Konzentrationen von 2,0, 1,0 und 0,5 mg/ml Dehydracetsäure verhinderten in gleicher Weise die Ausbildung von Aspergillus-niger-Kolonien, während bei Dosen von 0,2 mg/ml wieder Mycel entstand, das annähernd normale Wachstumsgeschwindigkeit aufwies.

2.4 Beobachtungen über morphologische Veränderungen der Aspergillus-niger-Kolonien

Eine Makrokolonie von Aspergillus niger entwickelt sich normalerweise in kreisrunder Form und erscheint durch zahlreiche Falten radial gefurcht. Auf dem rein weißen Mycel erheben sich, meist in konzentrischen Ringen angeordnet, die schwarzgefärbten Konidiosporenköpfchen, die zum Zentrum hin größer werden und dichter beieinander stehen. Die Kolonie besitzt ringsum einen 1 bis 2 cm breiten Saum, der aus dem jüngsten, gerade gewachsenen Mycel bestehend, noch unversport und daher von weißer Farbe ist. Das Mycel ist im Zentrum etwa 2 bis 5 mm dick, verflacht sich jedoch zum Rande hin. Vor den äußersten Hyphenspitzen wird die wachsende Kolonie von einer bandförmigen, gelb-braun pigmentierten Zone innerhalb des Nährbodens umgeben, die anscheinend aus vorausdiffundierenden, gefärbten Stoffwechselprodukten des Pilzes besteht.
Diesem Normalbild der Aspergillus niger-Kolonie entsprechen die Kulturen, die unter Einfluß von Yangonin, 11-Methoxy-yangonin, Desmethoxy-yangonin, Methysticin, synthetischem Kawain, der Flavokawine sowie von DHK - unterhalb der Konzentration 0,4 mg/ml - wachsen. Auf Nährböden, die DHM, natürliches Kawain oder Tetrahydroyangonin enthalten, zeigten die Pilzkolonien typische Veränderungen: Unter dem Einfluß des DHM entwickeln die Kulturen eine viel geringere Zahl von Konidiosporenköpfchen, außerdem fehlt ihnen das gelbe Pigmentband vor dem äußersten Rand des Mycels. Kulturen

auf THY - oder Kawain (natürl.) - haltigen Nährböden weisen gelbliches Mycel auf, das dem Nährboden flach und ohne Fältelung aufliegt. Vor allem aber ist den zuletzt genannten Kolonien gemeinsam, daß sie nicht mehr streng kreisförmig wachsen, sondern zahlreiche Vorlappungen oder Ausfallsstellen haben, die der Kolonie insgesamt einen sehr unregelmäßigen Umriß verleihen. Die Ausbuchtungen gehören jeweils zu Sektoren, die manchmal dicht, häufig aber gar nicht oder nur spärlich versport sind. Das gelbe Pigmentband, das normalerweise die Aspergillus niger-Kultur umgibt, fehlt auch hier. Durch natürliches Kawain und durch THY kommt es demnach zu einer auffälligen Sektorenbildung (Mutanten?) innerhalb der Makrokolonie, zu mehr oder weniger stark wachstumsgeschädigten Teilkolonien, die selbst ihr Wachstum bald ganz einstellen, so daß sie den Rand der Petrischale nicht mehr erreichen.

Tabelle 5: Wirkungen der aus Piper methysticum bekannten Inhaltsstoffe sowie der Dehydracetsäure auf das Wachstum von Aspergillus niger.

Verbindung	Herkunft	Konzentration in mg/ml	Wirkung
Yangonin	nat.	0,5 - 2,0	(+)
Desmethoxy-yangonin	synth.	0,5 - 2,0	(+)
11-Methoxy-yangonin	synth.	0,5 - 2,0	(+)
Flavokawin A+B	nat.	0,5 1,0	(+)
Methysticin	nat.	0,5 - 2,0	(+)
Dihydromethysticin	nat. synth.	0,5 - 2,0 0,5 - 2,0	(+) (+)
Kawain	nat. synth.	0,5 - 2,0 0,5 - 2,0	++ -
Tetrahydro-yangonin	teilsynth.	0,5 1,0 - 2,0	(+) ++
Dihydrokawain	nat. synth.	0,2 0,3 0,4 0,5 1,0 2,0 0,2 0,5	(+) + +++ ++++ ++++ ++++ (+) ++++
Dehydracetsäure	synth.	0,2 0,5	(+) ++++

- = keine Wirkung
(+) = schwach verringerte Wachstumsgeschwindigkeit
\+ = Wachstum setzt verzögert ein
++ = Wachstumsstop nach Erreichen eines best. Koloniedurchmessers
+++ = Wachstum setzt stark verzögert ein
++++ = keine Ausbildung von Pilzmycel = vollständige Hemmung

2.5 Beurteilung der antimyzetischen Drogenwirkung aufgrund der Einzeleffekte ihrer Inhaltsstoffe

Um zu beurteilen, inwieweit die antimyzetische Wirkung der Kawadroge aus den Einzelwirkungen der oben geprüften Reinsubstanzen zu erklären ist, muß man die Konzentrationen kennen, in denen sie in der Droge enthalten sind.

Tabelle 6: Die bekannten Inhaltsstoffe des Kawarhizoms in % des Drogengewichtes (nach Angaben der Literatur).

Verbindung	Gehalt in der Droge %	Literatur
Yangonin	0,99 - 1,05	BEIERSDORFF (1959)
11-Methoxy-yangonin	0,66	KLAPROTH (1966)
Desmethoxy-yangonin	0,09	KLOHS, KELLER et al. (1959)
Methysticin	0,7 - 0,75	BEIERSDORFF (1959)
Dihydromethysticin	0,39 - 0,42	BEIERSDORFF (1959)
Kawain	0,8 - 0,84	BEIERSDORFF (1959)
Dihydrokawain	0,3 - 0,33	BEIERSDORFF (1959)
Tetrahydro-yangonin	0,01	abgeschätzt nach Angaben bei KLAPROTH (1966)
Flavokawin A+B	0,05	HÄNSEL, RANFT u. BÄHR (1963)

Entsprechend der Aufstellung ist das Dihydrokawain, das als einzige der uns bekannten Kawasubstanzen das Wachstum von Aspergillus niger vollständig zu unterdrücken vermag, zu etwa 0,33 % in der Droge enthalten. Bezieht man diesen Wert auf die Hemmdosis des Drogenpulvers gegenüber unserem Testpilz (3 mg Droge/ml), so beträgt der darin enthaltene Anteil nur etwa 0,01 mg. Nach unseren Testergebnissen mit den Reinsubstanzen ist aber erst eine DHK-Menge von 0,5 mg/ml der genannten Drogenhemmdosis aequieffektiv. Innerhalb des benutzten Testverfahrens wirkt also die Droge erheblich stärker antimyzetisch als

ihrem Gehalt an DHK entspräche. Gemessen an der Wirksamkeit des kristallinen Reinstoffs müßte die Droge eine 50-fach größere Menge DHK enthalten, als es tatsächlich der Fall ist. Der relativ hohe Anteil von Kawain in der Droge (0, 84 %) kann die Wirksamkeitsdifferenz nur zum Teil erklären, weil reines Kawain auch in der hohen Konzentration von 2 mg/ml die Ausbildung von Aspergillus-niger-Kolonien nicht verhindert, sondern erst deren Weiterwachsen nach Erreichen eines bestimmten Koloniedurchmessers hemmt. Das Tetrahydroyangonin, das in seiner qualitativen Wirkung dem Kawain sehr ähnelt, kann noch weniger zur Erklärung herangezogen werden, weil es nur in äußerst geringer Konzentration (ca. 0,01 %) in der Droge vorkommt.
Dagegen sind folgende Möglichkeiten als Erklärung der Diskrepanz zwischen Drogengesamtwirkung und Aktivität der Reinstoffe denkbar:

1. Antimyzetische Eigenschaften des bisher nicht untersuchten ätherischen Öls der Kawadroge.
2. Vorkommen antifungaler Substanzen im wenig untersuchten wasserlöslichen Anteil der Kawadroge.
3. Hoher Verteilungsgrad der lactonischen Inhaltsstoffe innerhalb des Drogenmaterials, der, unterstützt durch eine Fülle von natürlichen Diffusionshilfen und Lösungsvermittlern (Lipoide, Kolloide etc.), zu größtmöglicher Löslichkeit und Resorbierbarkeit der einzelnen Kawasubstanzen führt.
4. Gegenseitige Wirksamkeitsverstärkung (potenzierender Synergismus) der bereits geprüften Kawasubstanzen bei Vorliegen von Substanzkombinationen, wie sie innerhalb der Droge gegeben sind.
5. Vorkommen anderer, noch unbekannter lipophiler Verbindungen mit antimyzetischen Eigenschaften.

Die vorstehenden Punkte bildeten das Programm für den weiteren Verlauf der Arbeit. Die unter 1. - 4. aufgeführten Möglichkeiten können leicht durch geeignete Versuchsanordnungen überprüft werden. Punkt 5. wurde als "denkbare" Möglichkeit der Vollständigkeit halber aufgenommen, denn das Vorliegen einer unbekannten, antimyzetisch hochaktiven Substanz erschien aus folgenden Gründen unwahrscheinlich:

Bei der seit über 100 Jahren betriebenen phytochemischen Forschung am Kawarhizom sind naturgemäß bisher diejenigen, sekundären Pflanzenstoffe isoliert worden, die am auffälligsten sind, die also (meist) den höchsten prozentualen Gehalt in der Droge aufweisen. Schon die zuletzt isolierten Stoffe (11-Methoxyyangonin, Flavokawine, Desmethoxy-yangonin) lagen in sehr geringer Konzentration vor. Eine noch unbekannte, antifungal wirksame Substanz im lipophilen Anteil, die der Isolierung bisher entgangen ist, dürfte bestenfalls in Spuren vorkommen. Um dabei trotzdem die antimyzetische Wirkungslücke decken zu können, müßte ihr eine außerordentlich starke antifungale Aktivität zukommen, wie sie nach dem bisherigen Wissen über antimyzetische Substanzen aus höheren Pflanzen recht unwahrscheinlich ist.

2.5.1 Untersuchung des ätherischen Öls auf antimyzetische Wirkung

Nach CUZENT (1939/1940) soll das Rhizom von Piper methysticum ätherisches Öl enthalten, doch gibt der Autor weder Auskunft über dessen Zusammensetzung noch über den prozentualen Anteil in der Droge.

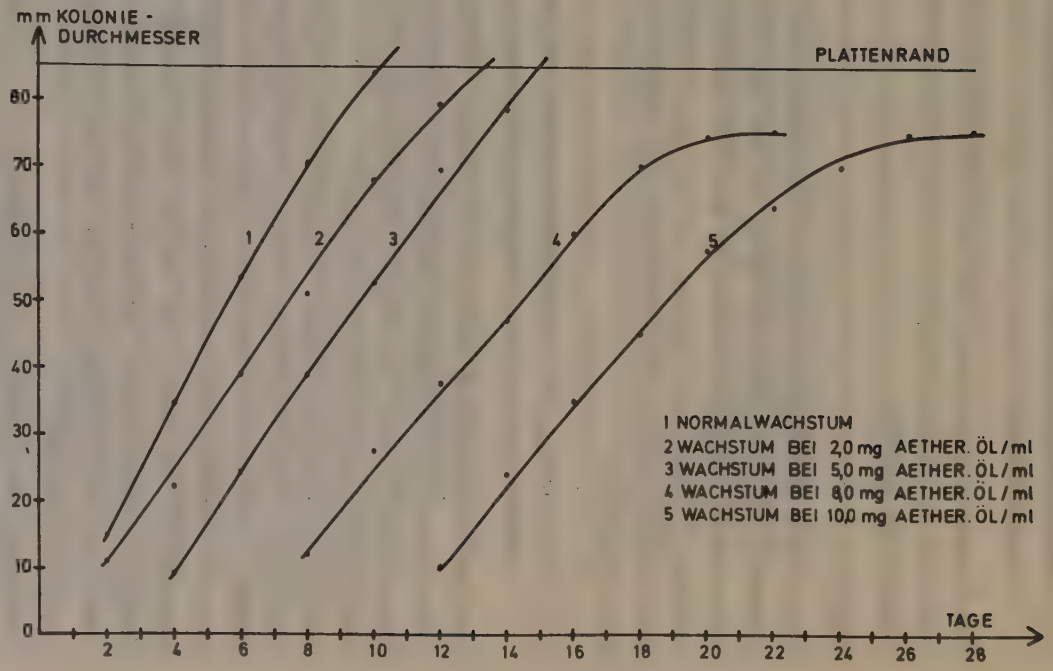
Da die meisten ätherischen Öle höherer Pflanzen inhibitorische Fähigkeiten gegenüber Mikroorganismen besitzen und häufig sogar als Antiseptica benutzt werden (z. B.: Ol. Caryophylli, Ol. Santali, Senföle), war eine Beteiligung des Kawaöls an der antifungalen Wirkung des Rhizoms zu überprüfen. Wir gewannen das ätherische Öl deshalb mittels Wasserdampfdestillation und untersuchten es auf antimyzetische

Aktivität. Da nach FURGIUELE (1965) in das Wasserdampfdestillat auch Kawapyrone mit übergehen sollen, deren Vorhandensein den Pilztest verfälschen würde, chromatographierten wir das destillierte Öl mit authentischen Kawasubstanzen als Vergleich. Dabei konnten wir jedoch keine der bisher bekannten Piper methysticum-Inhaltsstoffe darin nachweisen. Das Öl wurde anschließend in gleicher Weise wie die Reinstoffe auf Pilzwirksamkeit geprüft.

Ergebnis:

In hohen Konzentrationen bewirkt das ätherische Öl des Kawarhizoms ein verzögertes Einsetzen des Pilzwachstums (s. Abb. 10): Bei Dosen von 10 mg/ml beginnen die Kolonien nach 12 Tagen, bei 8 mg/ml nach 8 Tagen Verzögerung zu wachsen, sind aber nicht mehr in der Lage, den Rand der Petrischale zu erreichen, sondern stellen kurz vorher ihr Wachstum ein.
Bei darunter liegenden Dosen (5 mg und 2 mg Öl/ml) ist nur noch eine geringe Verzögerung des Wachstumsbeginns bzw. eine Verringerung der Wachstumsgeschwindigkeit zu beobachten.
Die Kolonien, die sich unter Einfluß größerer Mengen ätherischen Öls entwickeln (bei 10,0 - 5,0 mg/ml) zeigen auch gewisse morphologische Veränderungen gegenüber den Normalkulturen: Das Mycel ist nicht mehr weiß, sondern ockergelb bis sandfarben; die Konidiosporenköpfchen sind nicht mehr schwarz, sondern braun gefärbt und stehen so dicht beieinander, daß das Mycel kaum noch zu sehen ist. Die Kolonien liegen dem Nährboden außerdem ganz flach an und weisen etwa die 3-4-fache Zahl an Radialfalten auf wie die Normalkolonien.
Das ätherische Öl der Kawadroge besitzt demnach ebenfalls antimyzetische Eigenschaften (s. Punkt 1), die aber unter Einbeziehung des Drogenanteils von 4 % und wegen der erst in hohen Dosen auftretenden Effekte nur in geringem Maße die Wirksamkeit der Reinstoffe in der Droge unterstützen dürften.

Abbildung 10: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß verschiedener Konzentrationen des ätherischen Öls aus Rhiz. Kawa Kawa



2.5.2 Untersuchung des hydrophilen Anteils der Kawadroge auf antifungale Wirkung

Das Drogenpulver wurde nach Extraktion seiner lipophilen Bestandteile direkt in flüssigem Nährboden verteilt und auf pilzhemmende Eigenschaften geprüft.

Ergebnis:

Nach 4 Tagen Bebrütungszeit zeigte der Nährboden ein sehr starkes Wachstum, das sogar intensiver war als auf dem Kontrollmedium aus reinem Agar. (Möglicherweise bedingt durch die enthaltene Stärke, Zellulose ?) Damit wurde bewiesen, daß die antimyzetische Aktivität des Kawarhizoms einzig an die Substanzen des lipophilen Drogenanteils gebunden ist.

2.5.3 Untersuchung über Zusammenhänge zwischen der antimyzetischen Wirkung und dem Dispersitätsgrad der Kawainhaltsstoffe

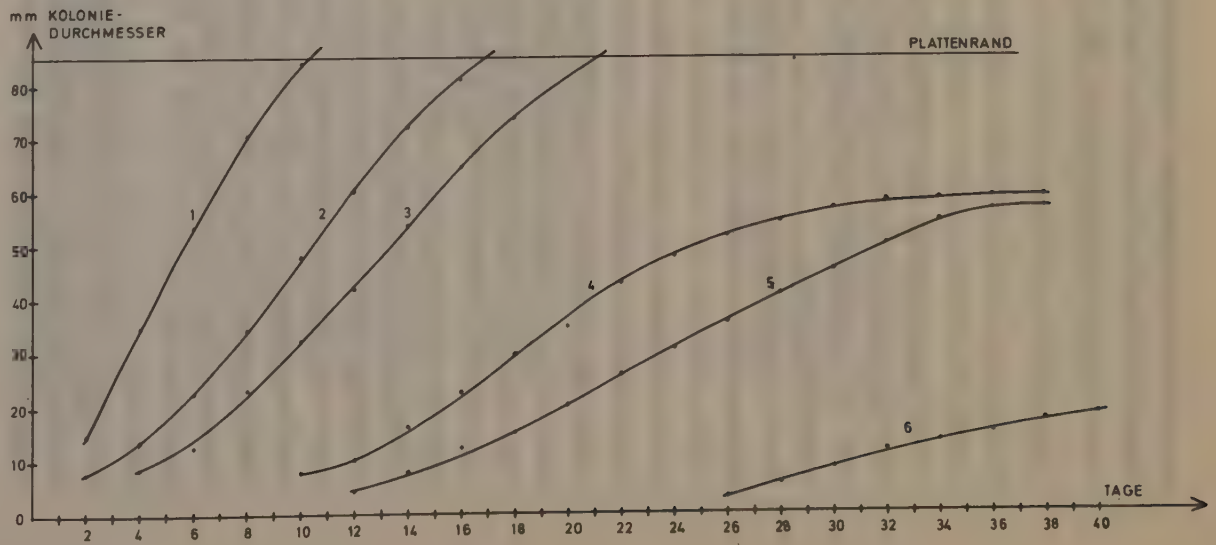
Aus dem vorangegangenen Abschnitt ist zu ersehen, daß die Droge durch Extraktion ihrer lipophilen Bestandteile ihre pilzhemmenden Eigenschaften verliert. Die aktiven Substanzen scheinen demnach völlig in den lipophilen Extrakt überzugehen.
Adsorbiert man nun den Extrakt in unterschiedlichen Mengen an den Trägerstoff, und prüft man die fertigen Adsorbate auf pilzhemmende Wirkung, so läßt sich bei Vergleich der Hemmwerte von Droge und Extrakt feststellen, ob die Dispersion der Wirkstoffe im Adsorbat gegenüber der Dispersion in der Droge zu einer Änderung der antifungalen Wirksamkeit führt. (Selbstverständlich lassen sich die Hemmwerte erst dann vergleichen, wenn man dabei den Extraktgehalt der Droge berücksichtigt.)
Mit dieser Methode prüften wir die Möglichkeit Nr. 3, nämlich, ob und in welchem Maße die Wirksamkeitsdifferenz Droge - Reinsubstanz auf dem hohen Verteilungsgrad der Kawastoffe in der Droge beruht.

Wir ermittelten die geringste, noch total wachstumshemmende Konzentration Extrakt/ml und maßen darüber hinaus die Wachstumskurven einiger darunter liegender Dosen (s. Abb. 11).

Ergebnis:

Es zeigte sich, daß eine Extraktkonzentration von 1, 5 mg/ml und darüber das Wachstum unseres Testpilzes innerhalb des Zeitraumes von 40 Tagen vollständig unterdrückte. Bei 1, 4 mg/ml begann nach einer Verzögerungszeit von 26 Tagen dagegen wieder Koloniewachstum, bei 1, 2 mg/ml schon nach 12 Tagen, bei 1, 0 mg/ml nach 10 Tagen Verzögerung.
Die innerhalb der beiden zuletzt genannten Konzentrationen gebildeten Makrokolonien entwickelten sich jedoch nur bis zu einer gewissen Größe und stellten dann ihr Wachstum ein, eine Wirkung, wie wir sie bereits bei Kawain nat. kennengelernt haben.
Unter Dosen von 0, 5 und 0, 25 mg Extrakt/ml begannen die Kolonien wieder ohne nennenswerte Verzögerung zu wachsen und erreichten, wenn auch mit verringerter Geschwindigkeit, den Plattenrand.
Wenn man vom Gehalt der Droge an lipophilem Extrakt ausgeht, der nach unseren Erfahrungen etwa 10 % beträgt, so können in der Hemmdosis der Ganzdroge (3 mg/ml) nur etwa 0, 3 mg Extrakt enthalten sein. Da aber erst eine Extraktkonzentration von 1, 5 mg/ml der Ganzdrogenhemmdosis äquieffektiv ist, erweist sich der lipophile Extrakt um etwa das 5-fache schwächer antimyzetisch wirksam, als seinem Gehalt in der Droge entspricht. Diese Beziehung wollen wir den "methodischen Faktor" nennen: Er gibt an, daß die Wirksamkeit der aktiven Prinzipien aus Kawa-Kawa bei Anwendung der Trägerstoffmethode auf den 5. Teil des Wertes sinkt, der bei Vorliegen des intakten Drogenverbandes erzielt wird.
Mit diesem Befund kann die Wirksamkeitsdiskrepanz Droge - Reinstoff als eine Folge des hohen Dispersitätsgrades der pilzhemmenden Substanzen im Kawarhizom zu einem beträchtlichen Teil erklärt werden.

Abbildung 11: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß des lipophilen Kawaextraktes



2.5.4 Untersuchung der Kawapyrone auf mögliche gegenseitige Verstärkung ihrer antifungalen Wirkung

Synergistische Effekte von Drogeninhaltsstoffen sind bei der insektiziden Wirkung der Pyrethrumsubstanzen mit Sesamin (SEXTON, 1958) sowie auch bei antimikrobiellen Stoffen (KAPLAN und KOCH, 1966) bekannt geworden.
Eine Überprüfung unserer Kawastoffe auf ähnliche Effekte gegenüber Pilzen nahmen wir durch Testung von Kombinationen der Reinsubstanzen vor.

Abbildung 12: Wachstumskurven von Aspergillus niger, die den synergistischen Effekt einer Mischung natürlichen Kawains und DHMs veranschaulichen

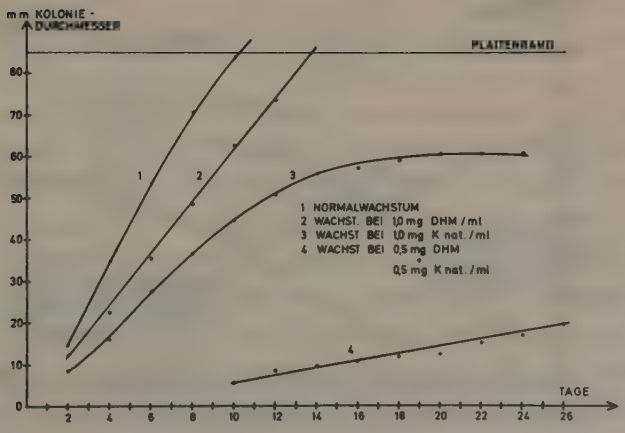


Abbildung 13: Wachstumsverminderung der Makrokolonien von Aspergillus niger bei Kombination von DHM nat. und THY teilsynth.

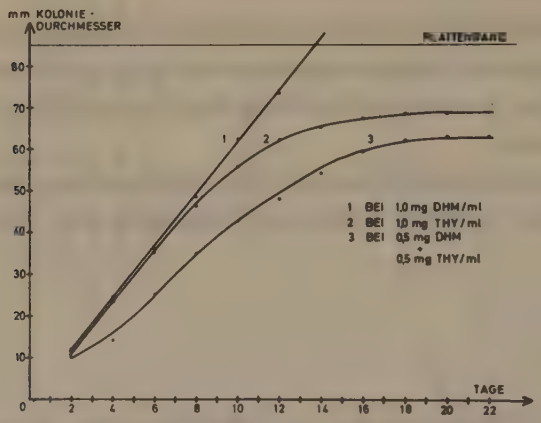


Abbildung 14: Wachstumsverminderung der Makrokolonien von Aspergillus niger bei Kombination von Kawain nat. mit THY teilsynth.

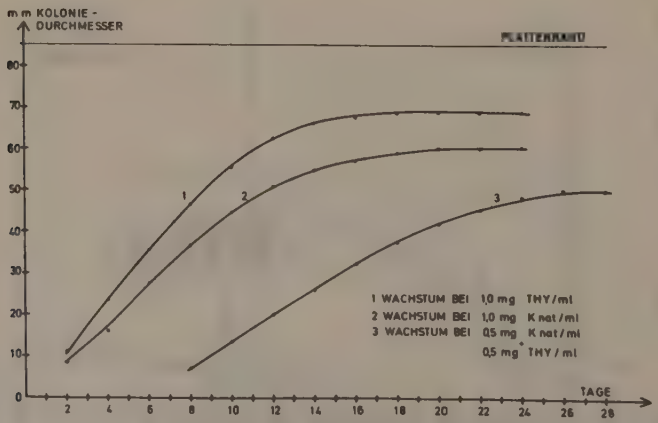


Abbildung 15: Wachstumskurven von Aspergillus niger, die additive Effekte von natürlichem Yangonin und Methysticin veranschaulichen

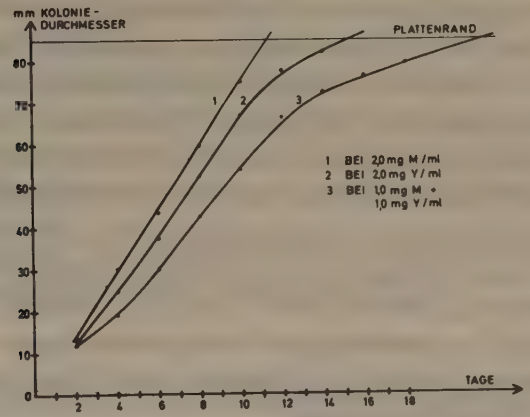
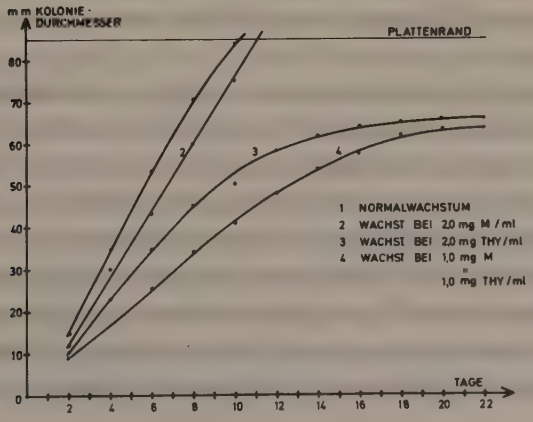


Abbildung 16: Wachstumskurven von Aspergillus niger, die additive Effekte von Methysticin nat. und THY teilsynth. veranschaulichen



Ergebnis:

Es zeigte sich eine überraschende, überadditive Verstärkung antimyzetischer Wirkung bei einigen Pyronenkombinationen: Am auffälligsten war dieser Effekt bei Kombination natürlichen Kawains mit DHM nat.: Eine Mischung beider Stoffe im Verhältnis 1 : 1 behinderte das Pilzwachstum wesentlich stärker als die gleiche Menge jedes der beiden Einzelstoffe: Während unter Einfluß von 1,0 mg DHM/ml das Pilzwachstum kaum beeinträchtigt wurde und durch 1,0 mg K/ml sich immer noch Makrokolonien von durchschnittlich 60 mm Durchmesser innerhalb 20 Tagen entwickelten, kam es bei einer Kombination von 0,5 mg K mit 0,5 mg DHM erst nach 10 Tagen zur Ausbildung einer winzigen Kolonie, die äußerst langsam weiterwuchs und nach weiteren 18 Tagen (Ende des Beobachtungszeitraumes) gerade einen Durchmesser von etwa 19 mm erreicht hatte.

Ähnliche Effekte wurden bei Kombination von DHM mit THY und von K mit THY beobachtet, die aber nicht ganz so stark waren und angesichts des geringen THY-Gehaltes in der Droge keine große Rolle in der Praxis spielen dürften.
Mischungen von Yangonin mit Methysticin sowie Methysticin mit THY verhielten sich etwa additiv. Weitere Mischungen mit Kawain und Mischungen mit DHK konnten wegen Substanzknappheit nicht durchgeführt werden.
Die vorliegenden Versuchsergebnisse erschienen uns repräsentativ genug, um auf eine überadditive Verstärkung der antifungalen Eigenschaften von Kawapyron-Kombinationen verallgemeinernd schließen zu können. Es muß dazu gesagt werden, daß innerhalb der Droge ja nicht nur Zweierkombinationen der Reinstoffe vorliegen und wirksam sind, sondern ein viel komplizierteres Mehrfach-Kombinationsgemisch von Substanzen, wodurch noch weitergehendere Verstärkungen synergistischer Natur zu erwarten sind. Wir versuchten nun weiterhin, mit einem möglichst einfachen, substanzsparenden Verfahren die Gesamt-

heit der synergistischen Effekte zu erfassen, einschließlich der inhibitorischen Aktivität des ätherischen Öls.
Gleichzeitig sollte damit ein endgültiger Beweis geliefert werden, ob die Kriterien der Punkte 1 — 4 , die nach den bisherigen Untersuchungen zur Erklärung der Drogengesamtwirkung in Frage kamen, wirklich ausreichend seien. Deshalb prüften wir eine Mischung aller bisher bekannten Kawainhaltsstoffe und des Kawaöls im entsprechenden Verhältnis ihres Vorkommens in der Droge auf antimyzetische Wirkung.

2.5.5 Prüfung einer dem Drogengehalt äquivalenten Zusammenstellung von Kawainhaltsstoffen auf pilzhemmende Wirkung

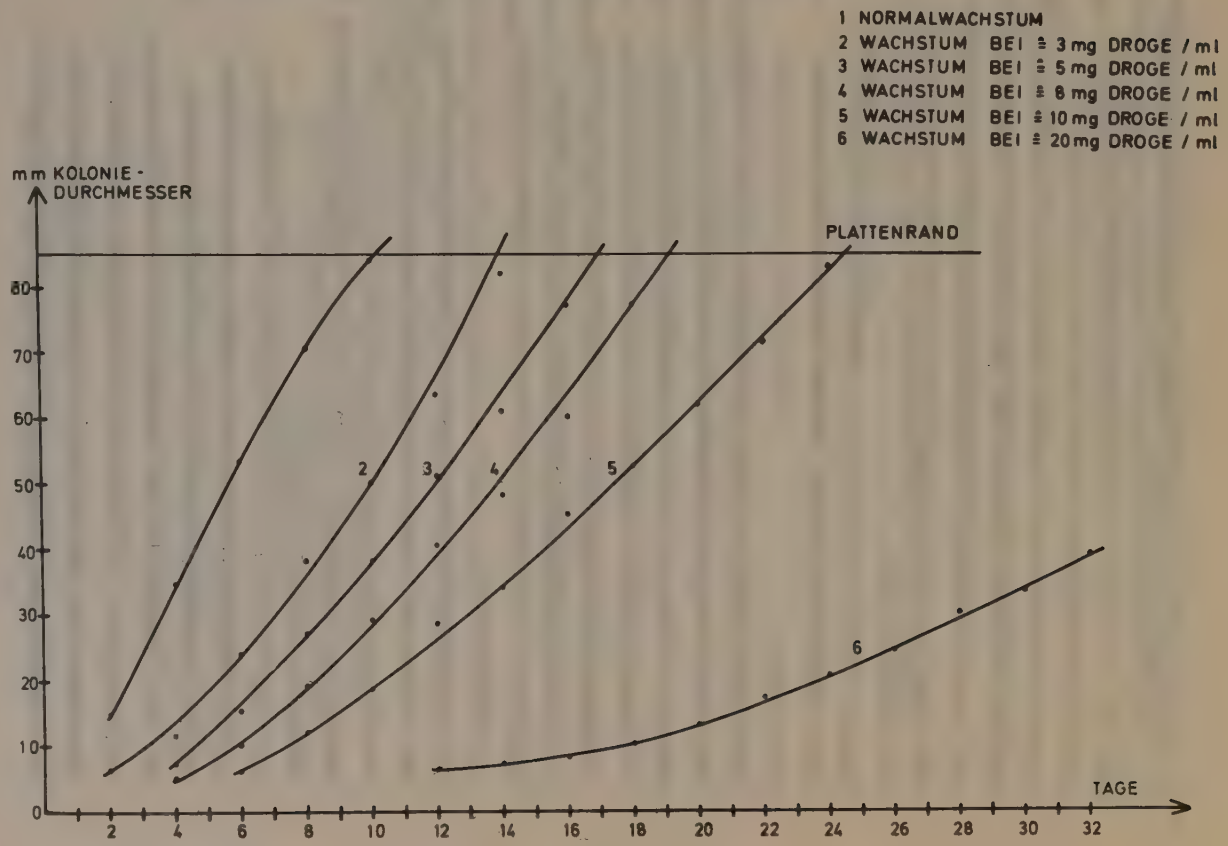
Ergebnis:

Die Hemmkonzentrationen, die das Pilzwachstum im gesamten Beobachtungszeitraum noch vollständig unterdrückte, war diejenige Verdünnungsstufe der Substanzzusammenstellung, die dem Inhaltsstoffgehalt einer Drogenmenge von 30 mg/ml entsprach.
Da dieser Wert aber durch Testung mit dem Trägerstoffverfahren ermittelt wurde, kann er nicht direkt der Drogenhemmdosis gegenübergestellt werden, sondern muß durch den "methodischen Faktor" 5 dividiert werden. Denn wie wir bei Prüfung des Punktes 3 sahen, resultiert aus der geringeren Dispersität des Trägerstoffes (verglichen mit der des Drogenmaterials) eine 5-fache Verminderung der antimyzetischen Aktivität unserer Inhibitionsmittel. Somit ergibt sich ein Wert von 6 mg/ml als Hemmdosis der Substanzkombination. Dieser Betrag kommt der echten Drogenhemmdosis von 3 mg/ml schon so nahe, daß man die Pilzwirksamkeit des Kawarhizoms fast ganz auf die bisher isolierten Inhaltsstoffe und das ätherische Öl zurückführen kann. Der immer noch bestehende, geringe Wirksamkeitsunterschied dürfte sich aus der Tatsache erklären, daß die Substanzkonzentrationen der Literatur, die unserem Versuch zu Grunde lagen, wahrscheinlich zu niedrig sind und nicht den wirklichen Gehalt in der

Droge darstellen. Es handelt sich üblicherweise um Werte, die von den isolierten, reinen Substanzmengen ausgehend, als Drogenkonzentration berechnet wurden und bei denen die Verluste, die im Laufe des Isolierungsprozesses auftreten, unberücksichtigt geblieben sind. Außerdem könnten Fette, Fettsäuren, nicht wasserdampfflüchtige Terpenoide und andere Substanzen des sekundären Stoffwechsels, die in der Droge mit Sicherheit enthalten sind, die antimyzetische Wirkung noch geringfügig verstärken, ohne daß aber dabei nennenswerte Effekte einer einzigen Substanz anzunehmen sind.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe können die antifungale Aktivität des Kawarhizoms nunmehr hinreichend erklären:
Sie kommt in der Hauptsache durch das stark antimyzetische DHK zustande, weiterhin durch synergistische Effekte der begleitenden Pyrone, Flavokawine und des ätherischen Öls sowie durch den hohen Dispersitätsgrad der Wirkstoffe im Drogenmaterial (Punkte 1, 3, 4). Das Vorkommen weiterer, stark antimyzetischer Substanzen noch unbekannter Struktur im Kawarhizom kann demnach mit größter Sicherheit ausgeschlossen werden (Punkt 5).

Abbildung 17: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von Substanzzusammenstellungen der Kawainhaltsstoffe (entspr. verschiedenen Drogenmengen)



2.6 Bestimmung der antifungalen Wirkung: Fungizidie oder Fungistase?

Unter der fungistatischen Wirkung eines Agens versteht man eine wachstumshemmende Aktivität auf Pilze, eine Wirkung, die ruhende Kulturen also nicht beeinflußt. Lediglich die Vermehrung (Zuwachs der Hyphen, Sporenbildung, Sporenkeimung) wird unterbunden. Durch die Entfernung des inhibierenden Agens (durch Auswaschen oder Abbau) ist die Vermehrungshemmung wieder aufhebbar (KÖHLER, 1956; ZÄHNER, 1965).

Dagegen verursacht die fungizide Wirkung eines Agens irreversible Schäden an der Pilzzelle, die zum Absterben der Sporen und Hyphen führen.

Beide Begriffe gehen aber häufig ineinander über, da ihre Unterscheidung vor allem an zwei miteinander korrespondierende Faktoren geknüpft ist, nämlich an die Einwirkungszeit und an die Konzentration des Agens. Es gibt also Fungistatica, die bei genügend langer Einwirkungszeit und genügend hoher Konzentration auch fungizid wirken, z. B. Nystatin, neben reinen Fungistatica, die auch bei höchster Konzentration und längster Einwirkungszeit nur fungistatisch wirken, z. B. Griseofulvin.

Zur Überprüfung chemischer Agentien auf fungistatische oder fungizide Wirkung sind Vorschriften ausgearbeitet worden (SCHMIDT, 1958), die sich genormter Versuchsbedingungen bedienen, und die die Wirkung der zu untersuchenden Substanz mit der Wirkung eines Standards (Hexylresorcinlösung) vergleichen.

Die in den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" (1959) in Frage kommenden Versuche, Suspensionsversuch (loc. cit., Abschnitt B I, 2) als auch die Rasenstückchenmethode (loc. cit., Abschnitt B I, 4d), wandelten wir für unsere Gegebenheiten geringfügig ab: Wir benutzten als Testorganismus Aspergillus niger (Rasen bzw. Sporen) und als Testlösung einen konzentrierten Bouillonextrakt der sterilisierten Kawadroge, innerhalb dessen die

höchstmögliche Konzentration des antimyzetischen Prinzips zu erwarten war. Außerdem sorgten wir für eine sehr lange Einwirkungszeit des Kawaextraktes auf Pilzrasen bzw. -sporen.

Ergebnis:

In beiden Versuchen konnten wir feststellen, daß die Kawadroge starke fungistatische, nicht aber fungizide Eigenschaften besitzt.

2.7 Untersuchungen über die Strukturspezifität der antimyzetischen Wirkung von Kawapyronen

2.7.1 Prüfung verschiedener synthetischer und halbsynthetischer, kawapyron-ähnlicher Verbindungen

Schon aus der verschiedenartigen Wirksamkeit der genuinen Kawasubstanzen sind gewisse Beziehungen zwischen antifungaler Wirkung und chemischer Konstitution ablesbar.
Um einen noch weiteren Überblick über die Strukturabhängigkeit der pilzhemmenden Eigenschaften kawapyron-artiger Verbindungen zu erhalten, prüften wir zusätzlich einige synthetisch und halbsynthetisch gewonnene Stoffe.
Es handelt sich um folgende Gruppen von Verbindungen (s. Abb. 18): (Die mit ^{x} bezeichneten Substanzen wurden von HÄNSEL u. Mitarbeitern, bisher unveröffentlicht, synthetisiert.)

a) Abkömmlinge der Dehydracetsäure (Substanz 1), die in ihrer α-Pyronstruktur gleichsam einen Teil eines Kawalactonmoleküls darstellen (Substanzen 2-4).

b) Verbindungen mit dem Grundskelett der Kawalactone, die jedoch Substituenten oder Substituentengruppen am Phenylring tragen wie sie bei genuinen Kawalactonen bisher nicht gefunden worden sind (Substanzen 5-12).

c) 5, 6-Dehydro- 7, 8-dihydrokawalactone, die einen nur synthetisch bekannten Hydrierungstyp der Kawapyrone ver-

körpern (Substanzen 13, 14).

d) Das ebenfalls nur synthetisch bekannte Yangoninhomologe des Methysticins (Substanz 15).

e) Substanzen vom Hydrierungstyp des Yangonins, die aber eine um 2 C-Atome verlängerte Brücke zwischen beiden Ringen besitzen (Substanzen 16, 17).

f) Kawasäuren. Es sind Verbindungen, die aus den Kawapyronen durch Spaltung des Lactonringes bei Alkalibehandlung hervorgehen und daher keinen Lactonring mehr besitzen (Substanzen 18-24).

Die Wirkung der getesteten Substanzen auf das Wachstum von Aspergillus niger ist in der folgenden Tabelle 7 zusammengefaßt:

Tabelle 7: Die Wirkungen der getesteten Substanzen auf Aspergillus niger

Substanz Nr.	Substanzen:Bezeichnung	Konz.: mg/ml	Wirkung:
1	Dehydracetsäure	0,2	(+)
		0,5	++++
2	Triacetsäurelacton	bis 1,0	-
		2,0	(+)
3	Methyltriacetsäurelacton	bis 1,0	-
		2,0	(+)
4	5,6-Dihydromethyltriacetsäurelacton	bis 2,0	-
5	11-Nitro-5,6-dehydrokawain	bis 2,0	-

Tabelle 7, Fortsetzung

6	11-Methoxy-12-hydroxy-5, 6-dehydrokawain	2, 0	(+)
7	10-Methoxy-yangonin	2, 0	(+)
8	10, 11-Dimethoxy-5, 6-dehydro-kawain	2, 0	(+)
9	11-Hydroxy-yangonin	2, 0	(+)
10	11-Amino-7, 8-dihydrokawain	0, 5 1, 0 2, 0	(+) + ++++
11	11-Methoxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-yangonin	2, 0	++
12	11-Hydroxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-yangonin	2, 0	++
13	5, 6-Dehydro-7, 8-dihydro-methysticin	bis 2, 0	-
14	5, 6-Dehydro-7, 8-dihydro-yangonin	bis 2, 0	-
15	5, 6-Dehydro-methysticin	bis 2, 0	-
16	4-Methoxy-6-[4-(3, 4-dioxy-methylen-phenyl)-butadienyl]-pyron-2	bis 2, 0	-
17	4-Methoxy-6-[4-(4-methoxy-phenyl)-butadienyl]-pyron-2	bis 2, 0	-
18	Kawasäure	bis 2, 0	+
19	Methysticinsäure	bis 2, 0	(+)
20	7, 8-Dihydrokawasäure	0, 5 1, 0 - 2, 0	+++ ++++

Tabelle 7, Fortsetzung

21	7, 8-Dihydromethysticinsäure	0, 1 0, 25 - 2, 0	(+) ++++
22	Tetrahydroyangoninsäure	0, 5 1, 0 - 2, 0	+ ++++
23	Tetrahydromethysticinsäure	0, 1 0, 25 0, 5 - 2, 0	(+) + ++++
24	Yangonasäure	2, 0	(+)

- = keine Wirkung
(+) = schwach verringerte Wachstumsgeschwindigkeit
+ = Wachstum setzt verzögert ein
++ = Wachstumsstop nach Erreichen eines best. Kolonie-durchmessers
+++ = Wachstum setzt stark verzögert ein
++++ = keine Ausbildung von Pilzmycel = vollständige Hemmung

Abbildung 18: Liste der synthetischen und halbsynthetischen Substanzen, die auf pilzhemmende Eigenschaften untersucht wurden

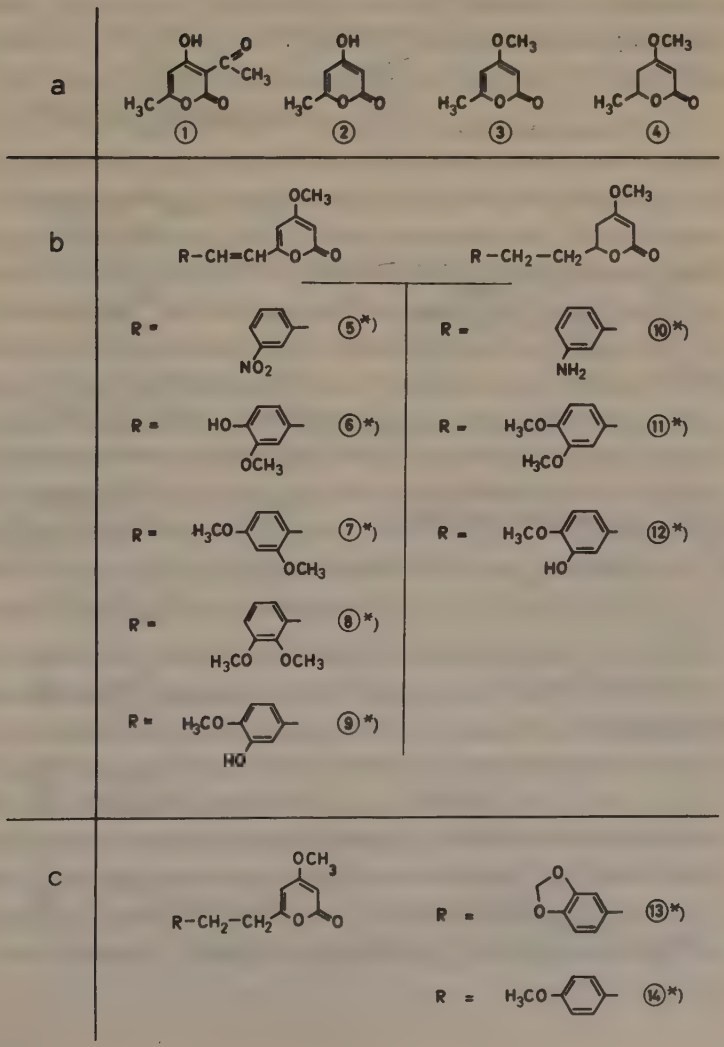
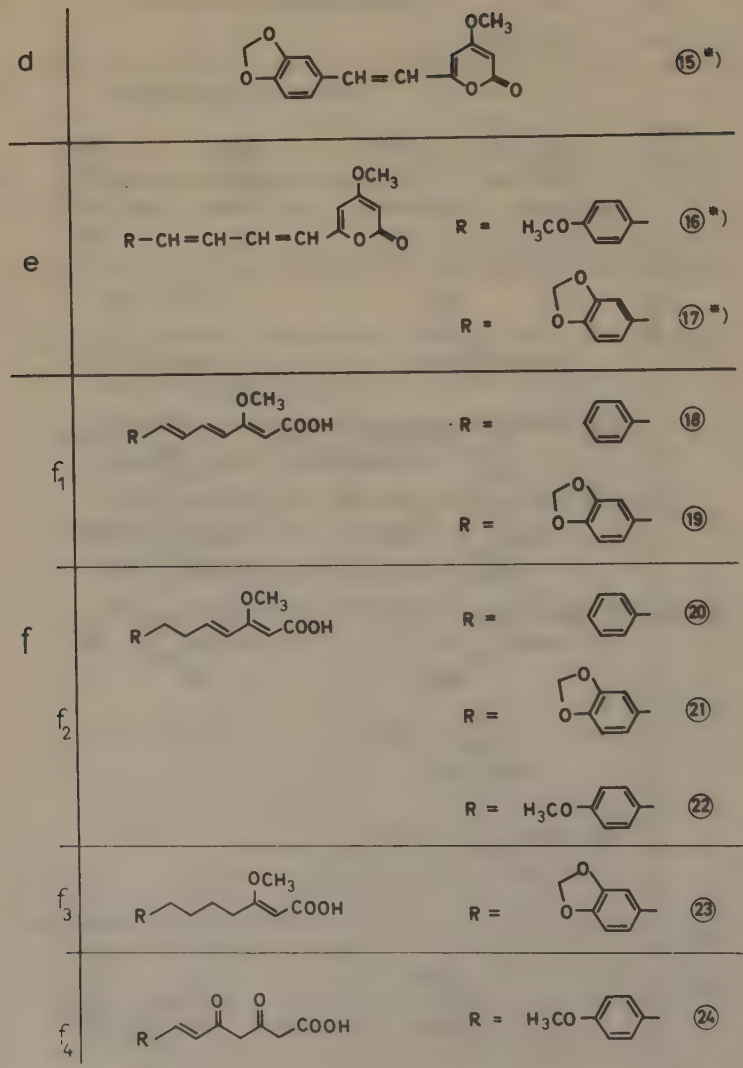


Abbildung 18: Fortsetzung



Aus unseren in Tabelle 7 aufgeführten Ergebnissen geht folgendes hervor: In der Gruppe der Dehydracetsäure-abkömmlinge (a) scheint eine erstaunliche Wirkungsspezifität zu bestehen. Die Dehydracetsäure (1), die unserem DHK in der antifungalen Aktivität gleichkommt, wird durch Abspaltung der Acetylgruppe (als Triacetsäurelacton (2)) unwirksam. Ebenso führen zwei Folgeschritte in der Veränderung des Moleküls, die es unserem DHK-Teilmolekül ähnlicher machen (Methylierung der OH in 4-Stellung (3) und Hydrierung der Doppelbindung Δ 5, 6 (4)) zu gänzlich unwirksamen Verbindungen.

Es scheint daher, daß, von der chemischen Konstitution her gesehen, keine Zusammenhänge zwischen der Wirkung der Dehydracetsäure und der des DHK bestehen. Das wird vor allem durch die Tatsache unterstrichen, daß es sich bei der Dehydracetsäure um ein Dienolid handelt, ein Substanztyp, der nach unseren Erfahrungen innerhalb eines vollständigen Kawapyrongerüstes nicht antimyzetisch wirksam ist (z. B. Yangonin, 5, 6-Dehydrokawain etc.), wogegen der Lactonring des wirksamen DHK ein Enolid ist. Da die Dehydracetsäure außerdem auch antibakteriell wirkt (KRAMLIK, 1958), das DHK jedoch nicht, scheint der Dehydracetsäure eine wesentlich unspezifischere antimikrobielle Aktivität zuzukommen als dem DHK. Ein weiterer, stark unterscheidender Faktor dürfte die Löslichkeit beider Substanzen in Wasser sein: Die Dehydracetsäure ist gut wasserlöslich, das DHK dagegen nicht.

Die folgende Gruppe (b), die wieder aus vollständigen Pyronen vom Kawatyp besteht, kann man in 2 Untergruppen (b_1 und b_2) einteilen, d. h. in eine mit dem Hydrierungsmuster des Yangonins (Doppelbindungen bei Δ 5, 6 und Δ 7, 8 = b_1) und in eine vom Hydrierungsmuster des DHK (Δ 5, 6 und Δ 7, 8 hydriert = b_2).
Wir konnten feststellen, daß bei Gruppe b_1 weder die Einführung von Nitro- oder Hydroxygruppen, noch von zusätzlichen Methoxygruppen zu pilzhemmenden Substanzen führt. Alle Verbindungen bewirkten, wie das Yangonin, lediglich eine geringügige Verlangsamung des Ko-

loniewachstums.

Anders bei der Gruppe b_2: Dosen von 2,0 mg/ml des 11-Amino-dihydrokawains (10) vermögen das Pilzwachstum von Aspergillus niger vollständig zu unterdrücken: doch ist das DHK gegenüber dieser schon erheblich besser wasserlöslichen Verbindung immer noch vierfach stärker antimyzetisch wirksam.
Die beiden anderen Vertreter dieser Gruppe, in Stellung 11 substituierte Tetrahydroyangonine bewirken, wie das THY selbst und wie das Kawain, nicht ein völliges Ausbleiben jeglichen Koloniewachstums, sondern nur einen Wachstumsstop der Makrokolonie, wenn diese einen bestimmten Koloniedurchmesser erreicht hat.

Die Substanzen der Gruppen c, d, und e waren völlig unwirksam. Auch die höchste geprüfte Dosis von 2 mg/ml ließ das Pilzwachstum völlig unbeeinflußt.
Dieser Befund stimmt mit unseren bisherigen Erfahrungen überein, wonach der 5,6-Dehydro-α-pyronring, der in allen Vertretern der 3 Gruppen enthalten ist, bei Substanzen vom Grundtyp der Kawalactone zu Wirksamkeitsverlust führt.

In der letzten Gruppen, den Kawasäuren (f), befinden sich Abwandlungsprodukte der genuinen Kawalactone, die durch Öffnen des Lactonringes zu Carbonsäuren geworden sind und dadurch strukturell eine Sonderstellung innerhalb der gesamten untersuchten Substanzen einnehmen. Sie lassen sich in vier Untergruppen einteilen, je nach Hydrierungsgrad bzw. je nach Darstellung aus den jeweils korrespondierenden Kawapyronen.
In der Untergruppe f_1 (Säuren aus den dem Hydrierungstyp des Kawains entsprechenden Kawalactonen) hatte die Kawasäure im geprüften Konzentrationsbereich ein deutlich verzögertes Einsetzen des Koloniewachstums zur Folge, während die Methysticinsäure nur geringfügige Wachstumsverlangsamung hervorrief.
Die Säuren der Untergruppen f_2 und f_3, bei denen gegenüber den vorangegangenen Verbindungen eine bzw. zwei Doppelbindungen hydriert

sind, erwiesen sich als erstaunlich antimyzetisch wirksam: Ihre Aktivität erreichte im Falle der Tetrahydromethysticinsäure quantitativ diejenige des DHK und übertraf sie sogar etwas im Falle der Dihydromethysticinsäure.
Die Yangoninsäure, einziger Vertreter der Untergruppe f_4, durch Spaltung des Yangonins zu gewinnen, wirkte auf die Aspergillus-Kolonien nur geringfügig wachstumsverlangsamend.
Da sich die Säuren jedoch, als Abbauprodukte der Kawalactone, vom Pyronmuster, das uns vor allem interessierte, am weitesten unterscheiden und außerdem bisher keine der Säuren in Rhizoma Kawa Kawa gefunden wurden, sollten ihre chemisch- mikrobiologischen Beziehungen erst in einer späteren Bearbeitung weiterverfolgt werden.

Unter Einbeziehung der Kawapyrone und der ihnen ähnlichen Verbindungen der vorstehenden Gruppen b - e lassen sich nunmehr auf breiterer Basis einige Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und fungistatischer Wirkung erkennen:
Gehen wir von der optimal wirksamen Substanz dieser Stoffserie, dem DHK, aus, dann ergeben sich Wirkungsverluste, durch folgenden Veränderungen des Moleküls:

I. Enthält das Gerüst des DHK Substituenten am Phenylring, so resultieren Substanzen, die sehr schwach antimyzetisch wirken (THY oder Subst. 10, 11, 12)oder nur in Kombination mit einem anderen Pyron (z. B. DHM nur wirksam mit Kawain).

II. Besteht im DHK-Molekül zwischen den C-Atomen 7 und 8 eine Doppelbindung, so fällt die Wirkung ebenfalls stark ab. Die resultierende Verbindung Kawain ist nur noch schwach antifungal wirksam.

III. Die Einführung der Doppelbindung in Stellung 5, 6 führt zu praktisch unwirksamen Substanzen, gleich, ob auch in

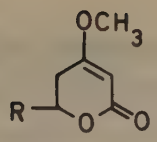
Stellung 7, 8 eine Doppelbindung besteht oder nicht (z. B. Yangoninhomologe oder Substanzen der Gruppe c).

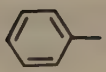
Bei unserem Verbindungstyp müssen also offenbar 2 Kriterien gegeben sein, um eine gute fungistatische Aktivität zu bedingen:

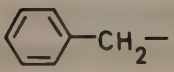
1. der Phenylrest muß unsubstituiert sein,
2. zwischen den C-Atomen 5, 6 und 7, 8 dürfen keine Doppelbindungen ausgebildet sein.

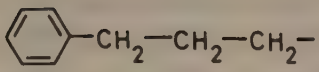
Uns interessierte nun weiterhin die Frage, inwieweit eine Variation des DHK-Musters unter Beibehaltung der unter 1. und 2. genannten Strukturmerkmale die antifungale Wirkung beeinflußt.
Zu diesem Zweck synthetisierten wir 4 Substanzen, deren C-Brücke zwischen beiden Ringen im Vergleich zum DHK verkürzt bzw. verlängert ist und prüften sie auf pilzhemmende Eigenschaften.
Ein solches Vorgehen schien uns im Falle der Verlängerung der Kette aussichtsreich zu sein, weil damit eine Steigerung der Löslichkeit in Lipoiden verbunden sein dürfte, die zu erhöhter Pilztoxizität führen könnte.
Auf der anderen Seite würden durch eine Verkürzung der C-Brücke Substanzen resultieren, die im Kohlenstoffgerüst dem 6-Phenylcumalin oder dem Paracotoin ähnlich sind, Inhaltsstoffen der Coto-Rinde, die früher als Antisepticum bei Darmkrankheiten verwendet wurde (GSTIRNER, 1933) und bei denen daher ebenfalls antimikrobielle Eigenschaften zu vermuten sind.

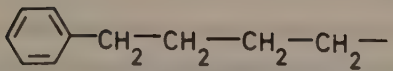
Bei den 4 zu synthetisierenden Substanzen handelt es sich um folgende Verbindungen:



R =  = 4-Methoxy-6-phenyl-5, 6-dihydro-pyron-2 (Substanz A)

R =  = 4-Methoxy-6-benzyl-5, 6-dihydro-pyron-2 (Substanz B)

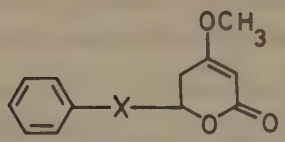
R =  = 4-Methoxy-6-(3-phenyl-propyl)-5, 6-dihydro-pyron-2 (Substanz C)

R =  = 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butyl)-5, 6-dihydro-pyron-2 (Substanz D)

2.7.2 Prüfung DHK-ähnlicher Lactone mit verlängerter bzw. verkürzter C-Brücke zwischen Phenyl- und Pyronring

Die vier von uns synthetisierten Verbindungen A - D ergeben zusammen mit dem Naturstoff DHK eine homologe Reihe von Substanzen, die sich voneinander nur durch die Anzahl von CH_2-Gruppen in der Kette zwischen Phenyl- und Pyronring unterscheiden.
Sie wurden in den Konzentrationen von 0, 5 - 2, 0 mg/ml mit der gewohnten Methode auf pilzhemmende Eigenschaften überprüft (Tab. 8):

Tabelle 8: Wirkung der DHK-homologen, synthetisierten Substanzen auf das Wachstum von Aspergillus niger



Substanz	Kettenlänge X	Konzentration 2 mg/ml	1 mg/ml	0,5 mg/ml
A	X = O	----	----	----
B	X = CH_2	++++	+++	++
DHK	X = CH_2-CH_2	++++	++++	++++
C	X = CH_2-CH_2-CH_2	++	++	(+)
D	X = CH_2-CH_2-CH_2-CH_2	+++	+	(+)

---- = keine Wirkung
(+) = schwach verringerte Wachstumsgeschwindigkeit
\+ = Wachstum setzt verzögert ein
++ = Wachstumsstop nach Erreichen eines bestimmten Kolonie-durchmessers
+++ = Wachstum setzt stark verzögert ein
++++ = keine Ausbildung von Pilzmycel = vollständige Hemmung.

Ergebnis:

Man entnimmt der Tabelle 8, daß 3 der 4 von uns synthetisierten Verbindungen fungistatische Eigenschaften besitzen; doch nur Substanz B ist in der Lage, das Wachstum unseres Testpilzes vollständig zu unterdrücken, allerdings erst in einer Konzentration (2 mg/ml), die vier-

fach höher liegt, als bei dem vergleichsweise mitgelaufenen DHK. In den darunter liegenden Konzentrationen (1ϕ mg und 0,5 mg/ml) werden verzögert Makrokolonien ausgebildet (s. Abb. 19), die aber nur einen bestimmten Durchmesser erreichen und nicht bis an den Rand der Platten wachsen. Die Kolonien sind außerdem nur im Zentrum, innerhalb eines geringen Bezirkes versport, der zur Peripherie hin von schwachem, diffus verlaufendem Mycel umgeben ist.

Die Verbindung C führt in den Konzentrationen 2,0 und 1,0 mg/ml ebenfalls zu Makrokolonien, die vor Erreichen des Plattenrandes ihr Wachstum einstellen (s. Abb. 20). Durch Dosen von 0,5 mg/ml ist nur noch die Wachstumsgeschwindigkeit gegenüber der Normalkultur schwach verringert.
Unter Einfluß von Substanz D (2,0 und 1,0 mg/ml) setzt das Wachstum stark verzögert etwa am 8. bzw. 6. Tage nach Beimpfung ein, verläuft aber dann normal bis an den Plattenrand (s. Abb. 21).

Substanz A war auch in der stärksten Konzentration wirkungslos und beeinflußte das Pilzwachstum nicht (vgl. Tab. 56).

In der betrachteten Substanzreihe kommt also dem natürlichen Vorbild, dem DHK, die größte fungistatische Potenz zu.
Sowohl die Verlängerung als auch die Verkürzung der C-Brücke führt zur Verminderung der fungistatischen Wirksamkeit.

Abbildung 19: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von Substanz B

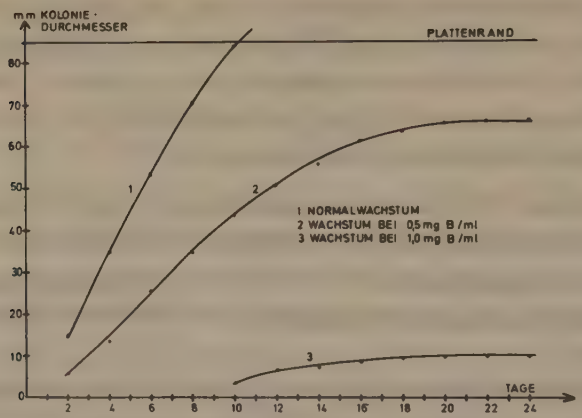


Abbildung 20: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von Substanz C

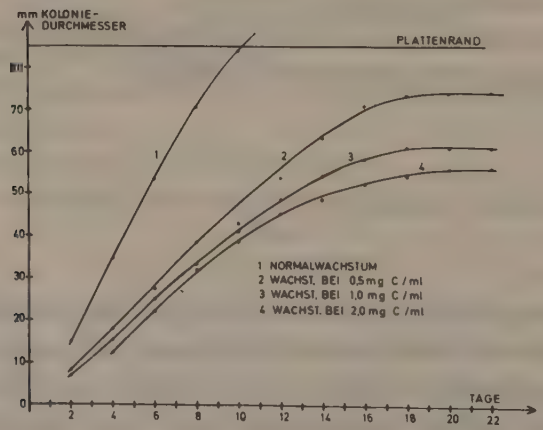
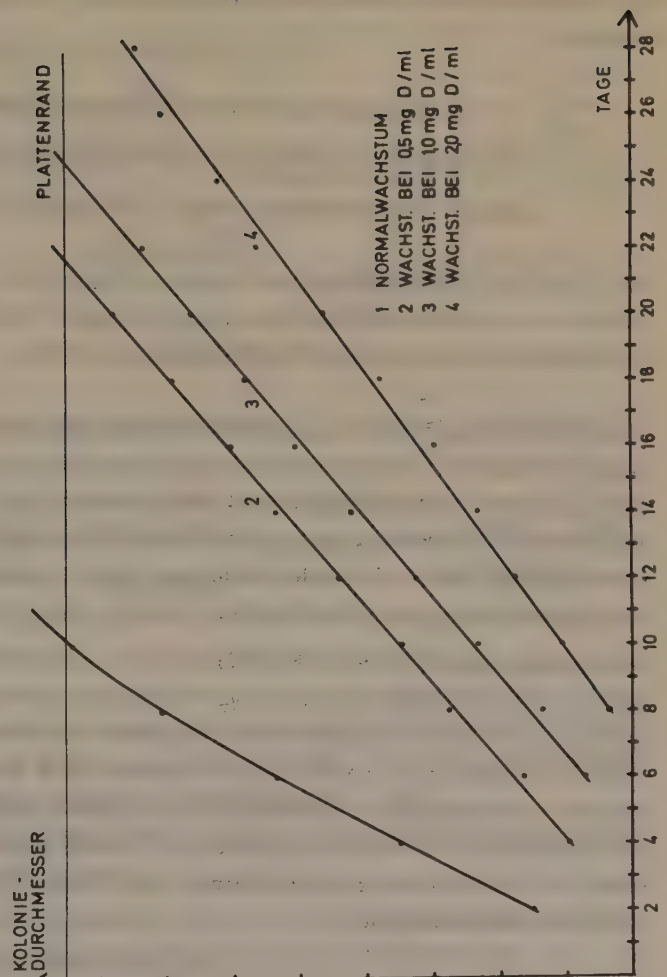


Abbildung 21: Wachstumskurven von Aspergillus niger unter Einfluß von Substanz D



2.8 Synthese der unter 2.7.2 geprüften Substanzen

Für die Synthese von Kawalactonen allgemein stehen 3 Methoden zur Auswahl:

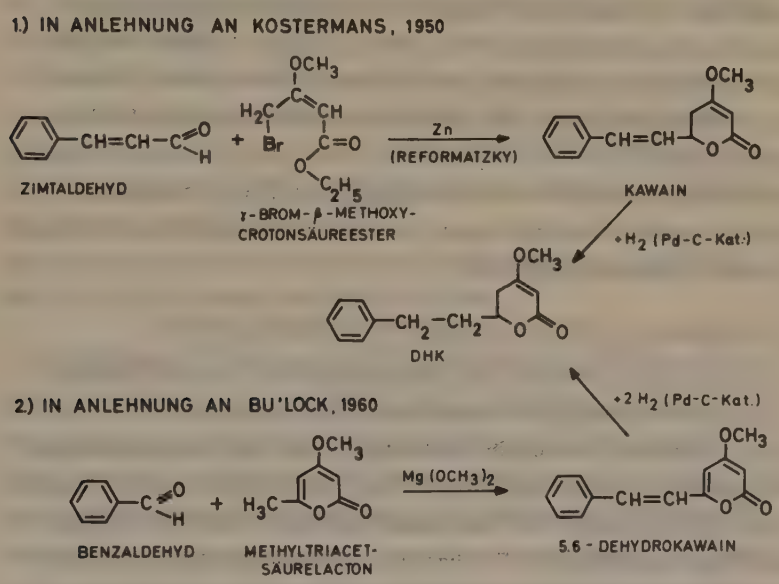
1. Die Kawainsynthese von FOWLER und HENBEST (1950)
2. die Kawainsynthese von KOSTERMANS (1950)
3. die Yangoninsynthese von BU' LOCK und SMITH (1960)

Alle 3 Synthesen führen zunächst zu Substanzen (Kawain bzw. Yangonin), die erst durch nachfolgende Hydrierung den für unsere Zwecke gewünschten Stofftyp der DHK - analogen Substanzen ergeben würden.

Da die Methode von FOWLER und HENBEST (1950) über eine große Zahl von Zwischenprodukten abläuft und ihre Gangbarkeit bei Einsatz mehr oder weniger langkettiger Phenyl-alkyl-aldehyde (statt des für die Kawainsynthese nötigen Zimtaldehyds) überdies fraglich erschien, entschieden wir uns für die beiden Methoden 2 und 3, die den Vorteil einer wesentlich kürzeren Reaktionsfolge haben (s. Abb. 22).

Die Synthese nach KOSTERMANS (1950) besteht in einer REFORMATZKY-Reaktion (vgl. SHRINER, 1942), bei der ein Phenyl-alkyl-aldehyd mit γ-Brom-β-methoxy-crotonsäureester umgesetzt wird. Da hierbei das Aldehyd- C-Atom in den Lactonring mit eingebaut wird, muß für die Synthese kawalactonartiger Substanzen mit verschieden langer C-Brücke der eingesetzte Aldehyd jeweils eine um ein C-Atom längere Kette besitzen, als die C-Brücke zwischen Phenyl- und Pyronring in der projektierten Substanz haben soll.

Abbildung 22: Die beiden Synthesewege für das Beispiel DHK formuliert



Benutzt man statt des in Abb. 22, 1 dargestellten Zimtaldehyds Dihydrozimtaldehyd, so gelangt man sofort zum DHK, ohne daß eine Hydrierung nötig ist (VISWANATHAN und SWAMINATHAN, 1960).
Analog diesem abgewandelten Verfahren synthetisierten wir unsere Substanzen A, B und C direkt

mit Benzaldehyd ⟶ Verbindung A
mit Phenylacetaldehyd ⟶ Verbindung B
mit γ-Phenylbutyraldehyd ⟶ Verbindung C

Die Synthese nach BU' LOCK und SMITH (1960) (Abb. 22, 2) verläuft als eine Aldolkondensation mit einem Phenyl-alkyl-aldehyd und der aufgrund des Vinylogie-Prinzips aktivierten 6-Methylgruppe des Methyltriacetsäurelactons im alkalischen Milieu. Will man mit diesem Verfahren kawalactonartige Substanzen mit verschieden langer C-Brücke darstellen, so müssen die jeweils eingesetzten Aldehyde eine um ein C-Atom kürzere Kette besitzen als die C-Brücke in der beabsichtigten Verbindung haben soll.
Substanz D synthetisierten wir nach dieser Methode mit Zimtaldehyd und durch anschließende Hydrierung des zunächst entstandenen 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butadienyl)-pyron-2.

2.8.1 Substanz A (4-Methoxy-6-phenyl-5, 6-dihydro-pyron-2)

Die Synthese dieser Substanz mit Benzaldehyd nach dem KOSTERMANS-Verfahren (1950) gelang glatt in etwa 54 %-iger Ausbeute.
Wie wir feststellten, wurde die Verbindung schon zweimal von anderen Arbeitsgruppen, nämlich im Jahre 1950 durch HENBEST und JONES und 1951 durch REID und RULEY unabhängig voneinander und auf verschiedenen Wegen synthetisiert. Der von uns gewählte Weg stellt eine 3. und wesentlich einfachere Synthesemöglichkeit dar, die im Gegensatz zu den beiden vorangegangenen ohne Zwischenstufen direkt verläuft. Die Angaben der genannten Autoren über physikalische Konstanten (Schmelzpunkt, UV-Absorption) dieser Verbindung stimmen im übrigen mit unseren Werten recht gut überein.

2.8.2 Substanz B (4-Methoxy-6-benzyl-5, 6-dihydro-pyron-2)

Der für die Synthese dieser Verbindung benutzte Phenylacetaldehyd neigt stark zu Polymerisatbildung und Autoxydation (HOUBEN-WEYL VII/1, 1954). Er ist daher nur in 50 %-iger Lösung in Diäthylphthalat im Handel. Die Reindarstellung aus diesem Gemisch probierten wir zunächst mit Hilfe einer bei HOUBEN-WEYL VII/1, (1954) angegebenen Methode, die über die Aldehyd-Bisulfit-Verbindung abläuft.

Der hierbei gewonnene Aldehyd war jedoch aus unbekannten Gründen nicht mit dem Crotonsäureester zu Substanz B umzusetzen.
Erst die Aldehydfraktionen, die wir im Hochvakuum direkt aus der 50 %-igen Handelsware destillierten, reagierten im Sinne der REFORMATZKY-Reaktion.
Im Unterschied zur Synthese von Substanz A erzielten wir bei Substanz B eine relativ geringe Ausbeute von etwa 8, 5 %, was sich aus der Empfindlichkeit des Phenylacetaldehyds gegenüber Metallionen, O_2 und Licht und seiner großen Neigung zu Nebenreaktionen an der aktiven CH_2-Gruppe erklären ließe.
Die Verbindung B ist unseres Wissens bisher weder aus pflanzlichem Material noch synthetisch dargestellt worden.

2.8.3 Substanz C (4-Methoxy-6-(3-phenyl-propyl)-5, 6-dihydro-pyron-2)

Wie bei der Synthese von Verb. B machte auch hier die Gewinnung reaktionsfähigen Aldehyds (γ -Phenylbutyraldehyd) einige Schwierigkeiten. Wir stellten uns zunächst γ -Phenylbuttersäure her, indem wir Benzol mit Bernsteinsäure-anhydrid in einer FRIEDEL-CRAFTS-Reaktion umsetzten und die entstandene Benzoylpropionsäure (SOMERVILLE und ALLEN, 1943) nach CLEMMENSEN reduzierten (MARTIN, 1942). Die resultierende γ -Phenylbuttersäure setzten wir dann mit Thionylchlorid zum entsprechenden Säurechlorid um (HOUBEN-WEYL VIII, 1952), welches anschließend nach dem ROSENMUND-SAYTZEFF-Verfahren zu γ -Phenylbutyraldehyd in 34 %-iger Ausbeute reduziert wurde (MOSETTIG und MOZINGO, 1948).
Der frisch destillierte, flüssige Aldehyd mußte sofort in eine vorbereitete REFORMATZKY-Reaktion eingebracht werden, weil er sich nach unseren Erfahrungen schon nach kurzer Zeit unter Erwärmung verfestigte (Bildung von Polymerisaten?).
Die Ausbeute an Verbindung C (6, 6 %) war ähnlich niedrig wie bei Substanz B und dürfte auch ähnliche Ursachen haben.
Die Verbindung C ist unseres Wissens ebenfalls bisher nicht beschrie-

ben worden.

2.8.4 Substanz D (4-Methoxy-6-(4-phenyl-butyl)-5, 6-dihydro-pyron-2)

Die Reaktion von Zimtaldehyd mit Methyltriacetsäurelacton (analog dem Verfahren von BU' LOCK und SMITH , 1960) verlief in etwa 14 %-iger Ausbeute glatt zu dem erwarteten Zwischenprodukt 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butadienyl)-pyron-2, das anschließend mit reinem Essigester und mit 5 %-iger Pd-Kohle als Katalysator zum beabsichtigten Endprodukt (Substanz D) hydriert wurde. Ausbeute 45 % der Theorie.

Auch Verbindung D ist bisher weder als Natur- noch als Syntheseprodukt bekannt.

2.8.5 Spektrophotometrische Analyse der Substanzen A - D

a) UV-Spektren

Die UV-Spektren der Substanzen A, B, C und D zeigen untereinander größte Ähnlichkeit (Lage der Minima und Maxima, Größenordnung der ε-Werte) und erwartungsgemäß auch Ähnlichkeit mit dem UV-Spektrum des DHK (vgl. Abb. 23).

Tabelle 9: Vergleich der Maxima und Minima aus den UV-Spektren der Substanzen A - D und DHK.

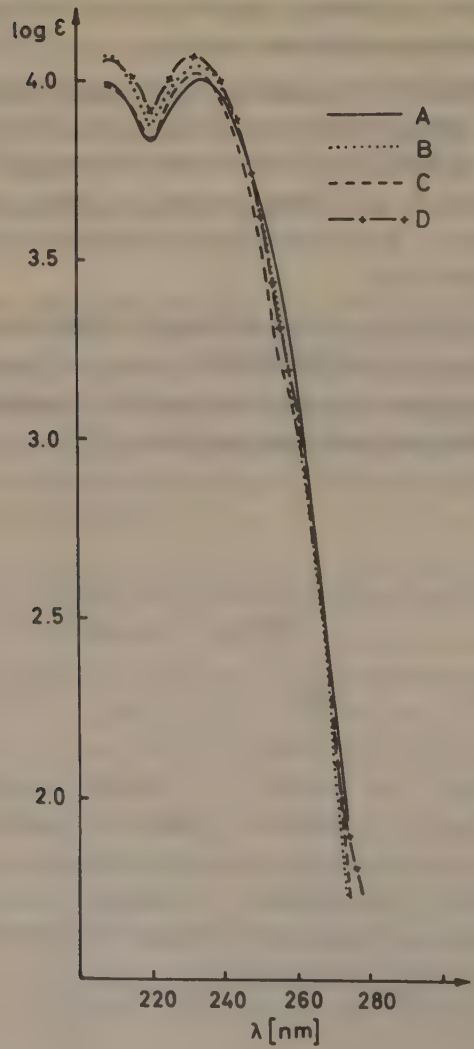
	A	B	DHK	C	D
Min.	220 nm (ε = 6900)	220 nm (ε = 7600)	221 nm (ε = 7400)	221 nm (ε = 6800)	221 nm (ε = 8300)
Max.	235 nm (ε = 10100)	233 nm (ε = 11100)	235 nm (ε = 11000)	234 nm (ε = 10400)	233 nm (ε = 11600)

Das DHK-Spektrum, das nach HÄNSEL, LANGHAMMER und RIMPLER (1967) als Additionsspektrum der beiden Teilchromophore Benzol (Toluol) und 5, 6-Dihydromethyltriacetsäurelacton (= DH-MTL) anzusehen ist, wird vor allem durch den Lactonchromophor geprägt, der als s-transfixiertes Enonsystem ein Maximum bei 235 nm (ε = 12500) besitzt (HÄNSEL, LANGHAMMER und RIMPLER, 1967).

Das Überwiegen des DH-MTL-Chromophors im DHK-Spektrum hat seinen Grund in der sehr geringen Absorption des Benzols (und der Alkylbenzole) im Bereich von 220-250 nm (z. B. ε -Wert des Toluols bei 230 nm; = ca. 12 1 Mol^{-1}. cm^{-1}, DMS UV-ATLAS I, 1966), wodurch bei einer Addition dieses 2. Teilchromophors das Spektrum des DH-MTL nur wenig verändert wird.

Da der DH-MTL-Anteil aber auch in den Substanzen A-D den Grundchromophor darstellt und als Zweitchromophore wieder nur Benzol bzw. Alkylbenzole in Frage kommen, ist die Ähnlichkeit der UV-Spektren von DHK mit denen der Substanzen A-D leicht einzusehen.

Abbildung 23: Die UV-Spektren der Substanzen A, B, C, D und DHK



b) IR-Spektren

Aus den Infrarot-Spektren der Substanzen A-D kann, wie auch aus dem Spektrum des DHK (s. Abb. 25), eine Reihe von Informationen gewonnen werden, die die betreffenden Verbindungen sämtlich als phenyl- bzw. phenyl-alkylsubstituierte δ-Lactone mit einer Enoläthergruppierung in β-Stellung zur Ketogruppe charakterisieren (s. Tab. 10).

Tabelle 10: Vergleich typischer Schwingungsbanden aus den IR-Spektren der Substanzen A-D und DHK

1. C=O- Valenzschwingungen für α, β-ungesättigtes δ-Lacton.
Starke Bande, z. T. aufgespalten ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.
1716	1712	1696	1705	1700	1690 - 1705 (BELLAMY, 1955) 1720 (NAKANISHI, 1962)

2. C=C- Valenzschwingung, konjugiert mit C=O
Breite Bande, z. T. aufgespalten ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.
1625	1624	1626	1631	1629	1615 - 1625 (HÄNSEL, RIMPLER, LANGHAMMER, 1965) 1585 - 1665 (SIMON-CLERK 1967)

3. CH-Valenzschwingungen der Methylengruppen.
Von Substanz A nach D zunehmende Intensität der Bandenstärke ($\nu \cdot cm^{-1}$).

Tabelle 10, Fortsetzung

	A	B	DHK	C	D	Lit.
symm.	2855	2850	2850	2850	2860	2850
asymm.	2945	2940	2940	2940	2940	2925 (NAKANISHI, 1962)

4. CH-Deformationsschwingungen des Typs $-CH_2-C{=}C-$ ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.
1442	1440	1447	1440	1445	1445 - 1430 (NAKANISHI, 1962)

5. CH-Valenzschwingungen der OCH_3.
Sehr schwache Banden ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.
2820	2820	2820	2820	2820	2815-2830 (NAKANISHI, 1962)

6. Aromatenschwingungen

a) C-H "out of plane"-Deformationsschwingungen
2 Banden typisch für monosubstituierte Aromaten ($\nu \cdot cm^{-1}$).

	A	B	DHK	C	D	Lit.
1.	703	700	695	702	695	690-710
2.	762	753	748	757	742	730-770 (NAKANISHI, 1962)

Tabelle 10, Fortsetzung

b) C=C-Valenz-(Gerüst)schwingungen ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.
1605	1605	1602	1605	1605	1575-1625
1502	1497	1500	1495	1500	1475-1525 (NAKANISHI, 1962)

c) CH-Valenzschwingungen ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.
3030	3030	3030	3030	3040	3030-3080
3060	3060	3060	3060	3060	mehrere
3080	3080	3080	3080	3080	(NAKANISHI, 1962)

7. Außerdem starke Banden, die für

C-O-Valenzschwingungen (α, β-ungesättigte Lactone)

und / oder für

=C-O-C asymmetrische Valenzschwingungen (Vinyläther)

sprechen. Ihre exakte Zuordnung zu einem der beiden Typen ist nicht möglich ($\nu \cdot cm^{-1}$).

A	B	DHK	C	D	Lit.	
1233	1210	1220	1226	1217	-C-O	=C-O-C
1240	1245	1230	1249	1240	1250-1300	1200-1275
1249		1254	1256	1252	u.	u.
					1050-1200	1020-1075
					(NAKANISHI, 1962)	

Abbildung 24: Die IR-Spektren der Substanzen A (oben), B (mitte) und DHK (unten)

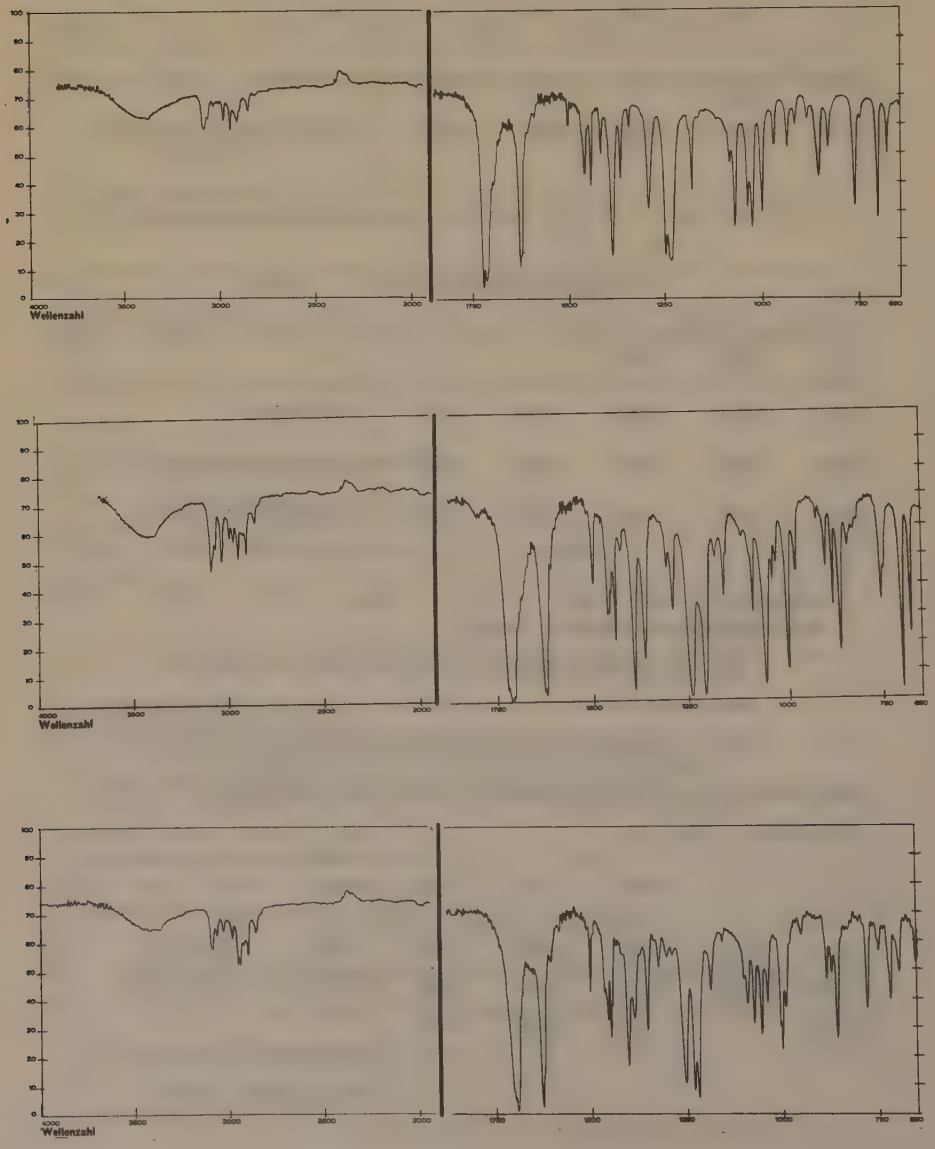
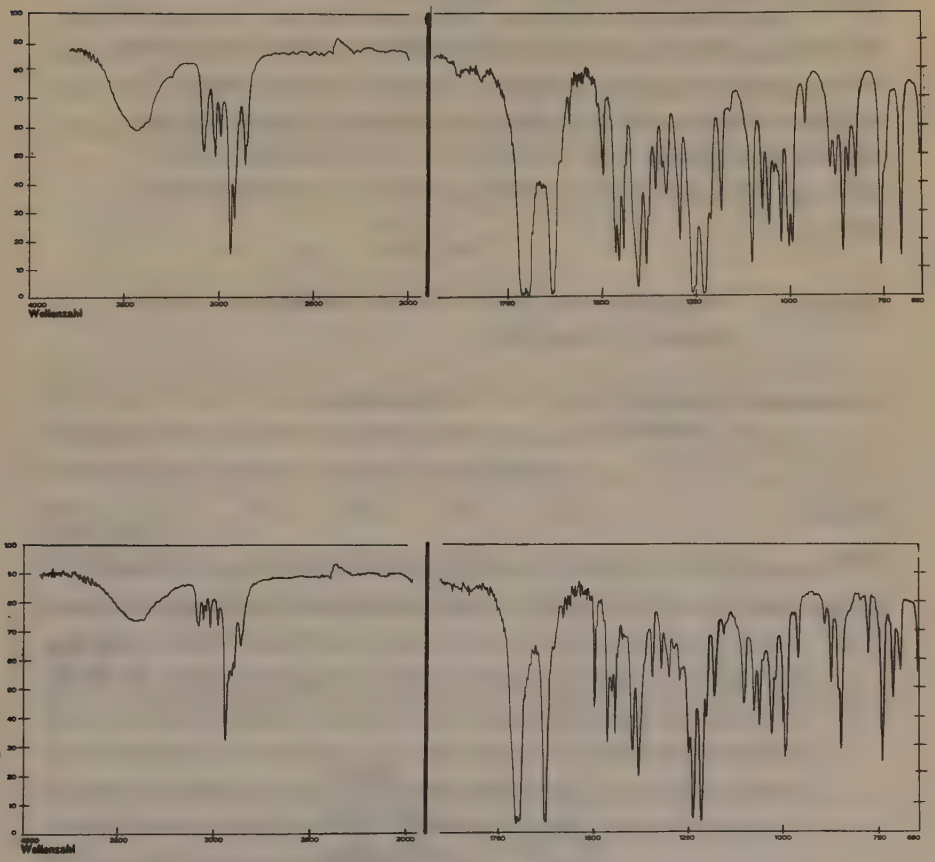


Abbildung 25: Die IR-Spektren der Substanzen C (oben) und D (unten)



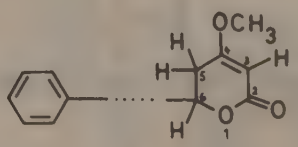
c) NMR-Spektren

Neben den Befunden über bestimmte Gruppierungen wie Aromat, Lacton etc., die bereits aus den UV- und IR-Spektren entnommen werden konnten, gestattet die NMR-Spektroskopie als einzige der drei spektroskopischen Methoden auch eindeutige Aussagen über Vorhandensein und Länge der Kette zwischen Phenyl- und Pyronring.

In Tabelle 11 sind die chemischen Verschiebungen derjenigen Protonen aus den einzelnen Spektren angegeben (in ppm (δ)), die in allen 5 Verbindungen gleichermaßen vorhanden sind und deren chemische Umgebung bei Verlängerung oder Verkürzung der C-Brücke gleichbleibt. Ihre Lage im Spektrum wird deshalb nicht oder nur unwesentlich verändert.

Tabelle 11: Vergleich einiger Signale aus den NMR-Spektren der Substanzen A - D und DHK

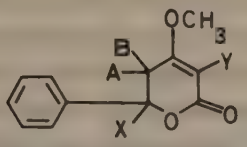
Gruppierung	Zahl der Protonen	Verbindung A	B	DHK	C	D	Lit.
Aromat	5	7, 38	7, 25	7, 22	7, 20	7, 18	6, 5-8, 0
OCH_3	3	3, 78	3, 70	3, 71	3, 71	3, 73	3, 3-4, 0
Proton am C-3	1	5, 22	5, 12	5, 13	5, 12	5, 12	4, 5-5, 5 (SUHR, 1965)



Das Aromatensignal ist, wie auch das OCH_3-Signal, erwartungsgemäß nicht aufgespalten. Dagegen tritt das Signal des Protons am C-3 stets als Dublett (J = 1 cps) auf infolge einer "long-range"-Kopplung mit einem der beiden Protonen am C-5.

Substanz A:

Das Spektrum zeigt ein Doppeldublett (1 Proton) mit dem Schwerpunkt bei 5,41 ppm (δ), (X-Teil eines ABXY-Systems). Außerdem findet sich ein Multiplett (2 Protonen) mit dem Zentrum bei etwa 2,7 ppm (δ), (AB-Teil des ABXY-Systems). Lage und Aufspaltung der Signale lassen sich gut mit folgender Struktur vereinbaren:



Dafür spricht z. B. auch, daß der Wert der chemischen Verschiebung von X gut mit dem nach den SHOOLERY-Regeln (SHOOLERY, 1960) berechneten Wert von 5,5 ppm (δ) übereinstimmt.

Substanz B:

Ihr Spektrum weist statt des Doppeldubletts im Spektrum von Substanz A ein Multiplett auf, welches ebenfalls dem C-6-Proton zuzuordnen ist. Das Signal ist hier durch zusätzliche Kopplung mit den Protonen der Brücken-CH_2-Gruppe so stark aufgespalten, daß eine genaue Analyse nicht ohne weiteres möglich ist. Dieses Multiplett ist gegenüber den entsprechenden Signalen im vorhergehendem Spektrum außerdem um etwa 0,8 ppm (δ) ins höhere Feld verschoben, was auf die abnehmende Entschirmung durch den Aromaten infolge der zusätzlichen CH_2 in der Brücke zurückzuführen ist.

Im CH_2-Bereich finden wir zwei Multipletts, I mit dem Schwerpunkt bei 2,35 ppm (δ) und II mit dem Schwerpunkt bei 3,1 ppm (δ), denen,

der Integration zufolge, je zwei Protonen entsprechen müssen. Multiplett I ist nach Lage und Aufspaltungsmuster dem CH_2-Signal der Verbindung A sehr ähnlich und daher ebenfalls den Protonen am C-5 zuzuordnen. Multiplett II ist der AB-Teil eines ABX-Systems (2 Protonen) und ist den Brückenprotonen zuzuordnen, die auffallenderweise magnetisch nicht äquivalent sind. Die Lage von Multiplett II im tieferen Feld erklärt sich aus der Nachbarschaft zum Aromaten, der eine stärkere Entschirmung der Elektronen bewirkt.

DHK:

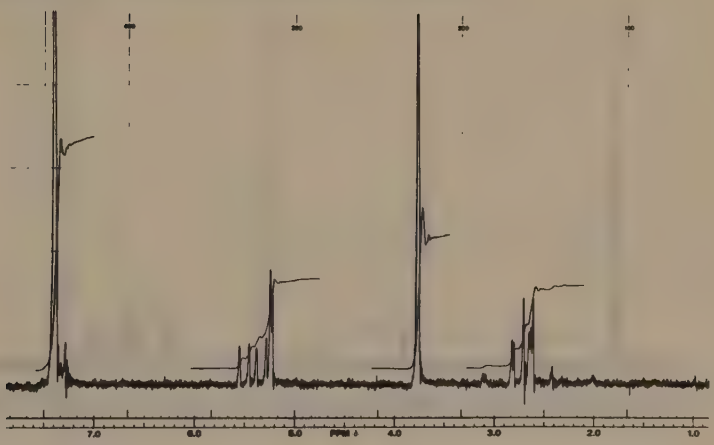
Bei dieser und den folgenden Substanzen C und D findet sich das Multiplett für das Proton am C-6 unverändert bei etwa 4, 3 ppm (δ). Im CH_2-Bereich tritt zu den 2 Multipletts (wie sie im Spektrum von 8 vorkommen) ein 3., im höchsten Feld gelegenes Multiplett hinzu, welches den beiden Protonen zukommt, die in der Brücke dem C-6-Proton am nächsten stehen. Auch die Integration der Flächen unter den Multipletts entspricht genau dem Verhältnis von 2 : 2 : 2 Protonen der 3 verschiedenen CH_2-Gruppen.

Substanzen C und D:

Ihre Spektren lassen im CH_2-Bereich folgende Gemeinsamkeiten erkennen: Wie beim DHK besteht eine Aufteilung in 3 Multipletts, von denen das im tiefsten Feld befindliche der phenylbenachbarten CH_2, das mittlere der im Lactonring enthaltenen CH_2 (C-5) und das im höchsten Feld befindliche den übrigen 2 bzw. 3 CH_2-Gruppen der Brücke zuzuordnen ist. Diese letzten CH_2-Gruppen liefern ein undeutlich aufgespaltenes Multiplett, dessen Integrationsfläche erwartungsgemäß 4 bzw. 6 Protonen entspricht.

Aufgrund der spektroskopischen Befunde sowie aufgrund der Elementaranalysen und der Synthesen sind die Strukturen der Substanzen A - D bewiesen.

Abbildung 26: Die NMR-Spektren der Substanzen A (oben) und B (unten)



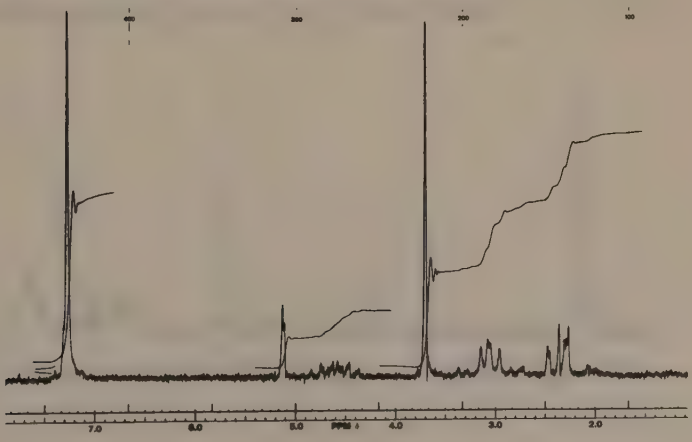
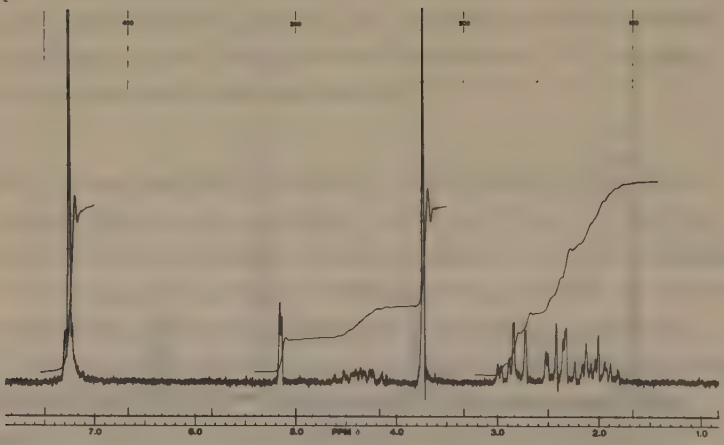


Abbildung 27: Die NMR-Spektren der Substanzen DHK (oben) und C (unten)



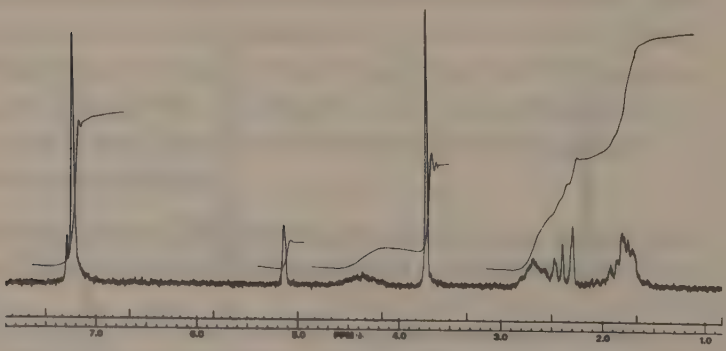
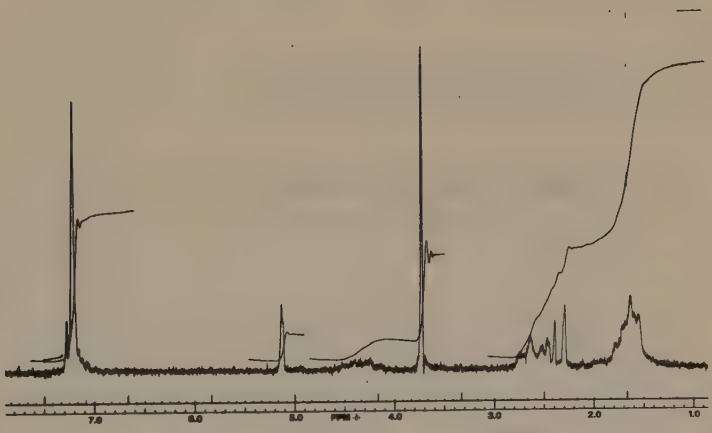


Abbildung 28: Das NMR-Spektrum der Substanz D



V EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Experimenteller Teil

1. Bakteriologische Versuche

1.1 Allgemeines

Als Drogenmaterial diente uns Handelsware der Firma CAESAR & LORETZ, Hamburg: "Rhizoma Kawa-Kawa, mittelfein gepulvert".

Der Nährboden für Plattenkulturen hatte folgende Zusammensetzung: 1 % Fleischextrakt, 0,3 % NaCl, 0,2 % Na_2HPO_4, 1 % tryptisch verdautes Pepton der Firma BRUNNENGRÄBER, 2 % Fadenagar, mit Leitungswasser angesetzt und durch 1n NaOH auf p_H 7,2 - 7,4 gebracht.

Für Flüssigkeitskulturen wurde einfache Fleischbouillon benutzt, die wie die Plattennährböden zusammengesetzt war, jedoch keinen Agar enthielt.
Staphylokokken und Streptokokken sowie der Neisseria catarrhalis-Stamm wurden auf Blutplatten gezogen, die gegenüber dem eben beschriebenen Agar noch 7 % defibriniertes Hammelblut, jedoch kein Na_2HPO_4 enthielten.
Stämme von Neisseria gonorrhoeae wurden auf Kochblutplatten gezogen, die folgendermaßen hergestellt wurden: Zu 250 ml Blutagar (s.o.) wurden weitere 35 ml Hammelblut gegeben und die Mischung wurde 30 Min. bei 82°C im Wasserbad unter Umrühren belassen. Nach Abkühlung auf 55°C wurden 35 ml Aszitesswasser zugegeben und der p_H anschließend auf 7,2 gebracht.
Die Bebrütung erfolgte annähernd anaerob im Kerzenflammentopf. Kulturen von Bacillus subt., Neisseria catarrh. und Neiss. gonorrh. wurden 48 Stunden lang, alle übrigen 24 Stunden bei 37°C bebrütet.
Herkunft der Organismen: Der verwendete Neisseria catarrh.-Stamm wurde aus der Sammlung des Landesmedizinaluntersuchungsamtes Berlin-Schöneberg bezogen, Neiss. gonorrh.-Stämme aus dem Medizinal-Untersuchungsamt im Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Ber-

lin-Wedding. Alle übrigen Testorganismen stammen aus der Sammlung des Institutes für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Freien Universität Berlin.

Alle Versuche liefen mit mindestens einer Wiederholung.

1.2 Prüfung der Ganzdroge

1.2.1 Lochplattentest

18-stündige Fleischbouillonkulturen der genannten Bakterienarten (s. S. 52, 53) wurden 1 : 10 mit steriler, physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. Von diesen Keimsuspensionen wurden jeweils 0,1 ml auf Agarplatten pipettiert und mit Glasspateln gleichmäßig ausgestrichen. Nach 1-stündigem Antrocknen stanzten wir mit einem sterilisierten Korkbohrer aus den beimpften Platten je 3 Scheiben von 1 cm Durchmesser aus und füllten in jedes Loch etwa 0,05 g Kawadroge ein. Die Droge wurde mit 2 Tropfen NaCl-lösung angefeuchtet, dann wurde bebrütet.
Für die Testung von Neisseria catarrhalis benutzten wir keine Keimsuspensionen, sondern strichen eine Öse einer 24 Stunden alten Kultur auf Blutplatten aus, bevor auch dahinein Löcher zur Aufnahme des Drogenpulvers gestanzt wurden.

1.2.2 Andere Testmethoden

In leere Petrischalen von 85 mm Durchmesser wogen wir 1 g Kawapulver ein und mischten die Drogenportionen nach dem Sterilisieren mit je 15 ml verflüssigten Nährbodens. Die erstarrten Nährböden wurden mit einer Öse einer 18-stündigen Bouillonkultur des betreffenden Testkeimes strichbeimpft.
Die Beurteilung erfolgte makroskopisch anhand von Vergleichskulturen.

200 ml Fleischbouillon wurden mit 20 g Drogenpulver 2 Stunden lang unter häufigem Schütteln auf 80 - 90 ^{o}C erhitzt. Diese Mischung wurde in einer Zentrifuge von allen Drogenbestandteilen befreit und nach

dem Sterilisieren stufenweise mit Bouillon verdünnt. Beimpfung der Stufen mit je 0,1 ml einer 1 : 10 verdünnten 18-stündigen Bouillonkultur des jeweiligen Testkeimes.
Beurteilung: makroskopisch anhand von Vergleichskulturen. Bei Bacillus subt. wurden die Keimzahlen der 1. und 2. Verdünnungsstufe durch Auszählung von Subkulturen festgestellt.

1.3 Prüfung der Reinstoffe

1.3.1 Papierblättchentest

Die Lösungen von je 5 mg der Reinsubstanzen in 0,1 ml Chloroform wurden auf Filtrierpapierblättchen von 1 cm Durchmesser aufgetragen. Nach Verdunsten des Chloroforms wurden die Blättchen mit 2 Tropfen NaCl-Lösung angefeuchtet und auf die beimpften Nährböden (s. Lochplattentest) aufgelegt.

Etwa 30 mg der Substanzen wurden in je 10 ml Bouillon gegeben und mehrmals unter Schütteln auf 80 - 90°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 0,1 ml einer 1 : 10 verdünnten, 18-stündigen Keimbouillon beimpft.
Beurteilung makroskopisch anhand von Vergleichskulturen.
Bei den Kawain-haltigen Kulturen von Escherichia coli und Staphylococcus aureus SG 511, Berlin wurden Keimzählungen vorgenommen.

2. Versuche mit Pilzen

2.1 Allgemeines

Als Drogenmaterial diente uns die gleiche Ware wie bei den Bakterienversuchen (s. dort).
Nährboden: Die Pilze wurden sämtlich auf "Pilznährboden Merck, nach SABOURAUD, modifiziert" gezogen, der 1 % Spezialpepton, 2 % D-Glucose und 1,5 % Agar enthält und einen p_H von 5,5-5,7 besitzt.
Die Testorganismen entstammen der Sammlung des Institutes für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Freien Universität Berlin.

Bebrütung: Jeweils 8 Petrischalen (lichte Weite 8, 8 cm) wurden übereinander auf eine flache Glasschale (Durchmesser 20 cm) gestellt und mit einem umgestülpten, zylindrischen "Mäuseglas" (Durchmesser 15 cm) bedeckt. Dieses Glas war innen mit durchfeuchtetem Filtrierpapier ausgeschlagen und stand innerhalb der flachen Glasschale auf 3 dünnen Holzklötzchen. In dieser Brutkammer herrschten eine Temperatur von 28°C und eine relative Luftfeuchtigkeit von über 95 %.

Herkunft der Substanzen: Die genuinen Kawalactone und Flavokawine wurden nach den von BEIERSDORFF (1959), KLAPROTH (1966) und HÄNSEL, RANFT, BÄHR (1963) angegebenen Verfahren aus der Droge isoliert.

Die Kawasäuren stellten wir analog der Methode von BORSCHE und PEITZSCH (1929) aus den Kawalactonen dar. Ein Teil der übrigen Substanzen wurde synthetisiert (vgl. HÄNSEL und RIMPLER, 1965), ein weiterer Teil (HÄNSEL, unveröffentlicht) wurde mir zur Verfügung gestellt. +)

2.2 Prüfung der Ganzdroge

Mengen von 0, 5-0, 1 g Drogenpulver wurden unter aseptischen Bedingungen in je 10 ml verflüssigten Agars eingerührt und in Petrischalen ausgegossen. Drogenportionen von 0, 1-0, 01 g verrieben wir, der besseren Verteilung wegen, 10 Min. lang mit 0, 5 g einer Mischung von 1T Kieselgur DAB 6. und 2T. Polyacrylnitril (Spinnstoffwerk, Berlin 37) und gaben diese Verreibung nach dem Sterilisieren in den Agar. Die erstarrten Nährböden wurden mit einer Öse Sporen oder Hyphenteilen 5-tägiger Pilzkulturen strichbeimpft. Bei jedem Versuch setzten wir zu Vergleichszwecken eine mit dem betreffenden Teststamm in gleicher Weise beimpfte Petrischale an, die reinen Agar ohne Drogenpulver enthielt.

+) Herrn Prof. R. Hänsel möchte ich für die Überlassung dieser Substanzen sehr herzlich danken.

Die Kulturen wurden etwa 5-6 Tage bebrütet.
Die in Tabelle 2 genannten Zahlenwerte (Grenzkonzentrationen der Hemmung für die einzelnen Pilzarten) wurden angegeben, wenn aus 5 Ansätzen der betreffenden Drogenkonzentrationen mindestens 3 eine vollständige, 4 Tage lang anhaltende Hemmung des makroskopischen Wachstums zeigten. Jede weitere Verminderung der Konzentrationen unter diese Zahlenwerte hatte eine vermehrte Wachstumsrate zur Folge.
Der Reihenversuch (Tab. 3) wurde zweimal an verschiedenen Tagen wiederholt.

2.3 Prüfung der Reinsubstanzen

Methylenchloridlösungen mit bestimmtem Gehalt an Testsubstanzen wurden mit jeweils 1 g unseres Trägerstoffes (1 T. Kieselgur DAB 6. + 2 T. Polyacrylnitril, Spinnstoffwerk Berlin 37) gemischt. Nach Vertreiben des Lösungsmittels (Erwärmung) wurden die Adsorbate 10 Min. lang im Mörser verrieben, dann sterilisiert, in 10 ml flüssigen Agars verteilt und in Petrischalen ausgegossen. Zur Erzielung einer gleichmäßigen Suspension wurde das Agar-Adsorbatgemisch in den Petrischalen unter aseptischen Bedingungen bis kurz vor den Erstarrungspunkt gerührt. Die erkalteten Platten wurden in der Mitte mit einer Öse (Ø 2 mm) der Sporensuspension beimpft, die wir folgendermaßen herstellten: Sporen 5-tägiger Pilzkulturen wurden mit steriler, physiologischer NaCl-lösung abgeschwemmt und mit einigen Tropfen "Eumulgin 286" (GOLDSCHMIDT A.G., Essen) versetzt, um eine gleichmäßige Verteilung der Sporen zu gewährleisten.
Durch Auszählen in einer Blutzählkammer nach NEUBAUER stellten wir die Zahl der Sporen / Vol. fest und verdünnten dann die Suspension auf einen Gehalt von ca. 100 000 Sporen pro 1/10 ml.

Als Testorganismus diente Aspergillus niger ATCC 6275.
Bebrütung siehe oben.
In 2-tägigen Abständen wurden die Platten kontrolliert, wobei wir jeweils die Koloniedurchmesser mit einem abgeflammten Stechzirkel

maßen. Platten mit teilweise oder vollständig gehemmtem Pilzwachstum wurden bis zu einer Dauer von 28, in Ausnahmefällen bis zu 40 Tagen beobachtet. Da das Ausmessen der Kolonien wegen der Undurchsichtigkeit der adsorbathaltigen Nährböden bei abgehobenem Plattendeckel vorgenommen werden mußte, kam es manchmal zu Bakterien- oder Hefeinfektionen, wodurch die Kulturen unbrauchbar wurden. Um trotzdem genügend Meßwerte für eine ausreichende Sicherung der beobachteten Effekte zu gewinnen, mußte daher eine größere Anzahl von Platten für jede Substanzkonzentration gegossen werden.

2.4 Beurteilung der antimyzetischen Drogenwirkung aufgrund der Einzeleffekte ihrer Inhaltsstoffe

2.4.1 Untersuchung des ätherischen Öls

2.4.1.1 Gewinnung des ätherischen Öls

100,0 lufttrockenes Drogenpulver wurde 2 Stunden lang der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat salzten wir mit NaCl aus und extrahierten mit Pentan. Der nach Vertreiben des Pentans übrigbleibende Rückstand, ein orange-gelb gefärbtes ätherisches Öl, machte etwa 4,3 % des Drogengewichtes aus.

2.4.1.2 Testung des ätherischen Öls

Das ätherische Öl wurde aus CH_2Cl_2-lösungen an den Trägerstoff adsorbiert und wie die Reinsubstanzen auf pilzhemmende Eigenschaften geprüft (s. o.). Wir testeten das Öl in Konzentrationen von 10, 8, 5 und 2 mg/ml.

2.4.2 Untersuchung des hydrophilen Anteils der Kawadroge auf antifungale Wirkung

Lufttrockenes Drogenpulver wurde 3 x 8 Stunden lang im Soxhletapparat extrahiert. Das zurückbleibende Drogenpulver, das im Laufe der Extraktion etwa 10 % seines Gewichtes verloren hatte, verteilten wir nach Vertreiben des restlichen Lösungsmittels in flüssigem Nährboden.

Wir fertigten Platten mit 0, 5 g Droge in 10 ml Agar an. Es ist wegen der starken Quellfähigkeit der Droge die höchst mögliche Konzentration. Der erstarrte Agar wurde anschließend mit einer Sporensuspension von Aspergillus niger (100 000 Sporen / 0, 1 ml) strichbeimpft.

2.4.3 Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen der antifungalen Wirkung und dem Dispersitätsgrad der Kawainhaltsstoffe: Prüfung des lipophilen Extraktes auf pilzhemmende Eigenschaften

Genau abgewogene Mengen des lipophilen Extraktes wurden in organischer Lösung, wie oben beschrieben, an gleich bleibende Mengen des Trägerstoffes adsorbiert. Verteilung im Nährboden, Beimpfung etc. erfolgte mit der gleichen Methode wie bei den Reinstoffen.
Es wurde die geringste, noch total hemmende Konzentration Extrakt / ml festgestellt sowie Wachstumskurven einiger darunter liegender Dosen gemessen.

2.4.4 Untersuchung der Kawapyrone auf mögliche gegenseitige Verstärkung ihrer antimyzetischen Wirkung

2.4.5 Prüfung einer dem Drogengehalt äquivalenten Zusammenstellung von Kawainhaltsstoffen auf pilzhemmende Wirkung

Eine Mischung der Reinstoffe und des ätherischen Öls stellten wir im quantitativen Verhältnis ihres Vorkommens in der Droge entsprechend Tabelle 6 zusammen und prüften sie nach Adsorption an den Trägerstoff in gewohnter Weise gegenüber Aspergillus niger. Dabei wurden Gemische gewählt, die jeweils verschiedenen Drogenmengen äquivalent waren, so daß nun ein direkter Vergleich mit den Drogenkonzentrationen möglich war. Wir testeten Substanzzusammenstellungen, die 3, 5, 8, 10, 20, 30 und 50 mg Droge / ml entsprachen.

2.5 Bestimmung der antifungalen Wirkung: Fungizidie oder Fungistase?

2.5.1 Suspensionsversuch

Von 5-tägigen Pilzkulturen unseres Testpilzes wurde eine Sporensus-

pension in physiologischer NaCl-lösung hergestellt, die in ihrer Dichte etwa einer $BaSO_4$-Suspension (1 mg $BaSO_4$/ml Aqua dest.) entsprach (gemessen mit dem EPPENDORF-Photometer). 0,1 ml der Sporensuspension wurden bei Zimmertemperatur in die Mitte von Petrischalen gegeben, in die wir anschließend 10 ml eines Kawa-Bouillonauszugs (s. Bakteriolog. Versuche) füllten. Nach einer Einwirkungszeit von 24 Stunden entnahmen wir dem Prüfgemisch eine Öse (Ø 4 mm) Material und überimpften auf Petrischalen, die 10 ml Nährboden enthielten. Die Ergebnisse wurden nach 7- bzw. 14-tägiger Bebrütung abgelesen.

2.5.2 Rasenstückchenmethode

Aus dem Pilzrasen 2 Wochen alter Aspergillus niger-Kolonien auf festem Nährboden (n. SABOURAUD) wurden mit Hilfe eines Korkbohrers (Ø 0,9 mm) Scheibchen ausgestanzt. Diese wurden in Petrischalen eingelegt und mit 10 ml eines Kawa-Bouillonauszugs (s.o.) übergossen. Nach 72-stündiger Einwirkungszeit entnahmen wir die Rasenstückchen, spülten 2 x mit sterilem Leitungswasser, wässerten sie anschließend 15 Min. lang und übertrugen sie dann auf Schrägagarröhrchen (SABOURAUD-Nährboden). Die Ergebnisse wurden nach 7- bzw. 14-tägiger Bebrütung abgelesen.

2.6 Untersuchungen über die Strukturspezifität der antimyzetischen Wirkung von Kawapyronen

2.6.1 Prüfung verschiedener synthetischer und halbsynthetischer, kawapyron-ähnlicher Verbindungen

Die synthetisch und halbsynthetisch gewonnenen Verbindungen der Abb. 18 wurden nach dem Trägerstoffverfahren bei einer maximalen Konzentration von 2 mg/ml geprüft. Wurde dabei eine Hemmung des Pilzwachstums festgestellt, so testeten wir meist mit um die Hälfte verringerten Konzentrationen weiter, bis keine pilzhemmende Wirkung mehr festzustellen war.

2.6.2 Prüfung der Substanzen A - D

Die von uns synthetisierten Substanzen A - D prüften wir in den Konzentrationen 2,0, 1,0 und 0,5 mg/ml nach dem bisherigen Verfahren auf antifungale Eigenschaften.

2.7 Tabellen mit den Werten der Pilzversuche

Die Werte der folgenden Tabellen 12 - 65 entstammen aus etwa der doppelten Zahl angesetzter Versuche. Sie geben die Durchmesser in mm wieder, die die Makrokolonien von Aspergillus niger bei der angegebenen Substanzkonzentration nach 2, 4, 6 ... usw. Tagen Wachstum aufwiesen.

Tabelle 12: Blindversuch

100 mg Trägerstoff/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10. Tag
Nr. 1.)	15	35	54	70	85
2.)	14	35	52	70	84
3.)	15	35	54	73	82
4.)	13	34	52	73	85
5.)	16	36	58	77	-
6.)	16	37	57	82	-
7.)	15	35	53	71	85
8.)	12	32	48	65	83
9.)	16	35	52	72	85
10.)	15	34	54	73	-
Durchschnitt	14,7	34,8	53,4	70,6	84,0 (mm)

Tabelle 13: 2,0 mg Yangonin nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12. Tag	
Nr. 1.)	13	25	38	53	68	79	-
2.)	13	25	39	54	69	80	-
3.)	11	24	37	52	67	76	83
4.)	11	23	36	51	65	75	82
5.)	12	26	39	53	66	78	85
Durchschnitt	12,0	24,6	37,8	52,6	67,0	77,6	82,0 (mm)

Tabelle 14: 2,0 mg Methysticin nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12. Tag
Nr. 1.)	12	29	40	59	74	85
2.)	14	3o	45	56	71	85
3.)	15	31	46	61	76	-
4.)	15	31	43	60	76	-
5.)	14	30	43	63	78	-
Durchschnitt	14,0	30,2	43,4	59,8	75,0 (mm)	

Tabelle 15: 0,5 mg DHM nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12. Tag
Nr. 1.)	12	22	36	49	62	74
2.)	13	24	36	50	63	74
3.)	12	22	35	49	60	72
4.)	11	22	35	48	60	73
5.)	12	24	37	51	64	74
6.)	13	24	38	52	65	75
7.)	12	22	35	47	62	74
8.)	14	25	39	53	66	75
9.)	12	23	37	51	63	74
10.)	11	22	36	51	64	73
Durchschnitt	12,2	23,2	36,4	50,1	62,5	73,8 (mm)

Tabelle 16: 1,0 mg DHM nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12. Tag
Nr. 1.)	12	23	34	49	62	75
2.)	13	24	36	50	63	76
3.)	13	25	38	51	66	76
4.)	12	22	35	49	61	71
5.)	12	22	34	45	60	69
6.)	10	2o	34	46	61	74
7.)	14	25	37	49	64	72
8.)	13	23	35	48	62	74
9.)	10	21	35	46	59	70
1o.)	13	23	36	48	65	76
Durch-schnitt	12,2	22,8	35,4	48,6	62,3	73,3 (mm)

Tabelle 17: 2,0 mg DHM nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12. Tag
Nr. 1.)	11	21	32	44	59	71
2.)	9	20	3o	45	57	70
3.)	14	23	34	45	59	72
4.)	10	22	32	47	58	72
5.)	12	22	33	44	56	68
6.)	9	20	31	47	56	70
7.)	11	22	34	49	60	74
8.)	14	24	38	49	63	75
9.)	12	21	36	48	61	75
10.)	12	21	34	46	59	73
Durch-schnitt	11,4	21,6	33,4	46,4	58,8	72,0 (mm)

Tabelle 18: 1,0 mg DHM synth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12. Tag
Nr. 1.)	11	23	36	52	67	74
2.)	13	25	41	51	69	78
3.)	14	25	42	53	70	79
4.)	12	24	40	50	68	78
5.)	10	22	34	48	64	73
6.)	13	24	39	51	67	77
7.)	11	23	37	51	66	76
8.)	13	25	41	55	70	79
9.)	11	23	39	50	70	79
10.)	14	25	41	54	71	78
Durch-schnitt	12,2	23,9	39,0	51,5	68,2	77,1 (mm)

Tabelle 19: 0, 5 mg Kawain nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20. Tag
Nr. 1.)	9	15	26	35	44	53	56	63	64	64
2.)	10	18	26	36	44	49	54	57	57	57
3.)	8	13	25	35	45	52	59	63	65	66
4.)	10	18	28	38	46	51	55	58	60	60
5.)	8	16	20	36	44	50	53	56	58	58
6.)	9	17	28	34	41	41	41	41	42	42
7.)	6	14	24	34	42	47	51	54	56	56
8.)	6	16	29	39	46	51	55	58	65	65
9.)	8	19	30	40	50	55	61	67	67	67
10.)	8	17	25	37	42	46	49	49	49	49
Durch-schnitt	8, 2	16, 4	26, 1	36, 6	44, 6	49, 6	53, 5	56, 8	58, 6	58, 6 (mm)

Tabelle 20: 1, 0 mg Kawain nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24. Tag
Nr. 1.)	7	16	29	42	53	59	63	63	63	63	63	63
2.)	6	13	25	33	40	45	47	47	47	47	47	47
3.)	8	14	23	33	43	49	53	56	63	64	66	66
4.)	8	15	25	34	43	47	50	56	60	64	64	64
5.)	8	15	27	39	44	50	55	57	61	64	64	64
6.)	10	18	32	40	46	54	60	62	62	62	62	62
7.)	8	17	31	38	49	52	58	59	60	61	61	61
8.)	9	16	27	38	43	49	50	51	53	56	56	56
9.)	12	21	35	38	44	47	52	57	59	61	61	61
10.)	9	18	32	40	49	53	62	62	62	62	62	62
Durch-schnitt	8, 7	16, 0	27, 7	36, 7	44, 8	50, 7	55, 9	57, 0	59, 0	6o, 4	6o, 6	60,6 (mm)

Tabelle 21: 2,0 mg Kawain nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24. Tag
Nr. 1.)	8	16	26	35	42	45	49	55	57	62	63	63
2.)	10	18	29	37	43	52	53	54	54	54	54	54
3.)	7	15	26	35	43	50	53	55	57	60	64	64
4.)	10	20	32	41	49	56	58	61	64	66	66	66
5.)	7	18	30	38	44	51	52	55	57	60	62	62
6.)	8	15	26	33	40	46	48	52	54	57	59	59
7.)	7	15	24	33	39	46	49	52	53	55	57	57
8.)	8	16	26	35	41	47	50	53	53	56	56	56
9.)	9	17	26	36	46	53	55	58	60	63	64	64
10.)	7	15	25	33	39	44	46	49	51	53	53	53
Durch-schnitt	8,1	16,5	27,0	35,6	42,6	49,0	51,3	54,4	56,0	58,6	60,3	60,3 (mm)

Tabelle 22: 0,5 mg Kawain synth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10. Tag
Nr. 1.)	14	29	46	59	78
2.)	14	27	44	60	76
3.)	18	33	47	63	78
4.)	17	32	46	62	77
5.)	12	26	41	57	73
6.)	15	30	46	64	75
7.)	13	26	42	58	75
8.)	13	25	40	60	76
9.)	14	27	43	64	80
10.)	15	28	47	64	83
Durch-schnitt	14,5	28,3	44,0	61,1	77,1 (mm)

Tabelle 23: 1,0 mg Kawain nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10. Tag
Nr. 1.)	12	25	42	59	78
2.)	15	29	48	63	83
3.)	15	27	44	65	82
4.)	14	27	44	62	80
5.)	15	26	46	64	81
6.)	13	25	44	62	80
7.)	15	27	42	60	79
8.)	12	25	44	61	81
9.)	16	27	45	64	80
10.)	18	30	49	66	84
Durch-schnitt	14,5	26,8	44,8	62,6	80,8 (mm)

Tabelle 24: 2,0 mg Kawain synth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10. Tag
Nr. 1.)	15	29	44	61	78
2.)	15	28	41	59	77
3.)	17	32	46	63	78
4.)	15	27	42	57	73
5.)	14	26	44	60	76
6.)	15	27	42	58	75
7.)	12	26	41	60	77
8.)	14	28	45	63	82
9.)	12	25	43	63	78
10.)	14	29	41	58	74
Durchschnitt	14,3	27,7	42,9	60,2	77,0 (mm)

Tabelle 25: 0,5 mg THY teilsynth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12. Tag
Nr. 1.)	10	21	33	44	61	71
2.)	12	25	36	48	60	69
3.)	9	22	34	48	62	74
4.)	10	23	34	48	61	72
5.)	13	24	37	51	65	78
6.)	12	24	36	50	63	76
7.)	10	24	35	49	62	74
8.)	10	22	33	47	61	73
9.)	11	23	33	46	60	71
10.)	12	24	36	48	63	70
Durchschnitt	11,0	23,2	34,7	47,9	61,8	72,8 (mm)

Tabelle 26: 1,0 mg THY teilsynth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	2o. Tag
Nr. 1.)	13	25	37	45	56	64	66	68	68	68
2.)	11	23	33	46	55	60	66	70	74	74
3.)	9	22	36	43	50	54	57	60	62	62
4.)	10	23	35	47	58	67	71	71	71	71
5.)	12	25	37	48	59	66	66	66	66	66
6.)	10	22	35	45	56	64	65	68	69	70
7.)	10	22	34	44	52	61	65	68	68	68
8.)	12	24	37	48	56	60	65	70	72	72
9.)	11	23	35	49	56	64	64	64	64	64
10.)	13	26	38	51	60	64	66	68	70	70
Durchschnitt	11,0	23,5	35,7	46,6	55,6	62,4	65,1	67,3	68,4	68,5 (mm)

Tabelle 27: 2,0 mg THY teilsynth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	9	20	33	44	51	62	63	66	66	66	66
2.)	10	23	35	44	52	60	62	65	65	66	66
3.)	12	25	37	47	52	59	61	63	64	64	64
4.)	10	22	33	42	49	56	60	64	66	68	68
5.)	13	25	36	48	52	57	62	63	64	65	65
6.)	12	25	37	48	51	56	60	63	65	66	66
7.)	11	23	36	46	52	62	63	64	64	64	64
8.)	11	23	35	46	53	60	64	66	68	68	68
9.)	10	22	32	42	48	54	58	60	61	62	62
10.)	11	23	34	44	52	61	65	66	67	67	67
Durch-schnitt	10,9	23,1	34,8	45,1	51,2	58,7	61,8	64,0	65,0	65,6	65,6 (mm)

Tabelle 28: 2,0 mg 11-Methoxyyangonin synth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	13	27	36	47	59	67	75
2.)	13	27	38	49	58	68	77
3.)	11	24	36	45	55	64	75
4.)	11	25	37	46	58	68	76
5.)	12	25	38	45	58	66	74
6.)	13	26	37	47	59	69	80
7.)	14	28	38	49	59	69	80
8.)	12	26	36	46	56	65	74
9.)	11	25	37	46	56	66	75
10.)	1o	24	37	46	54	64	74
Durch-schnitt	12,0	25,7	37,0	46,6	57,2	66,5	75,8 (mm)

Tabelle 29: 2,0 mg Dehydrokawain synth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	11	26	36	50	62	70	79
2.)	13	28	40	53	66	73	85
3.)	14	29	39	54	65	72	83
4.)	12	27	38	51	62	71	84
5.)	11	26	38	51	63	72	82
6.)	11	26	38	50	64	73	81
7.)	12	26	37	50	62	72	80
8.)	14	28	39	52	63	72	80
9.)	12	27	38	52	65	74	85
10.)	14	29	39	50	63	70	80
Durch-schnitt	12,4	27,2	38,2	51,3	63,5	71,9	81,9 (mm)

Tabelle 30: 0, 5 mg Flavokawin A+B/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	9	18	30	40	52	62	74
2.)	10	19	27	38	49	61	73
3.)	11	19	28	40	49	63	72
4.)	11	20	29	39	50	64	73
5.)	10	19	29	39	51	63	72
6.)	10	20	27	38	50	60	72
7.)	8	18	28	39	50	60	72
8.)	10	18	27	38	49	64	75
9.)	9	17	31	40	53	61	69
10.)	9	19	32	42	54	62	71
Durchschnitt	9,7	18,7	28,8	39,3	50,8	62,3	72,5 (mm)

Tabelle 31: 1, 0 mg Flavokawin A+B/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16. Tag
Nr. 1.)	7	13	25	34	45	53	64	73
2.)	8	14	22	32	39	53	66	76
3.)	8	15	21	30	42	52	65	72
4.)	10	15	22	32	40	51	64	74
5.)	8	13	23	30	40	52	61	73
6.)	7	13	22	31	41	52	61	73
7.)	8	14	23	33	42	52	63	74
8.)	8	13	22	30	41	54	60	73
9.)	9	14	23	33	42	52	63	76
10.)	9	14	23	33	43	55	65	76
Durchschnitt	8,2	13,8	22,6	31,8	41,4	52,6	63,2	74,0 (mm)

Tabelle 32: 0, 2 mg DHK nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	7	14	25	37	52	69	85
2.)	5	13	23	35	49	62	83
3.)	9	18	30	40	52	62	83
4.)	8	16	27	42	61	71	85
5.)	9	19	31	44	58	68	84
Durchschnitt	7,6	16,0	27,2	39,5	54,4	66,4	84,0 (mm)

Tabelle 33: 0, 2 mg DHK synth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	6	15	24	37	48	65	82
2.)	8	17	26	40	52	68	84
3.)	8	17	27	42	53	69	85
4.)	8	17	28	43	50	68	83
5.)	9	19	30	43	51	67	83
Durchschnitt	7,8	17,0	26,4	40,1	50,8	67,4	83,4 (mm)

Tabelle 34: 0, 2 mg Dehydracetsäure/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	10	15	26	37	50	64	79
2.)	10	14	23	36	49	63	78
3.)	9	13	23	36	48	63	77
4.)	8	12	23	34	46	60	74
5.)	9	13	25	37	48	61	76
Durchschnitt	9,2	13,4	24,0	36,0	48,2	62,2	76,8 (mm)

Tabelle 35: 0, 3 mg DHK nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	1o.	12.	14.	16.	18. Tag
Nr. 1.)	--	-	16	24	34	46	60	71	85
2.)	-	-	12	20	29	40	53	65	78
3.)	-	8	14	26	36	45	62	74	-
4.)	-	4	8	16	25	37	53	67	80
5.)	-	6	12	18	30	41	56	72	-
Durchschnitt	-	3,6	12,4	20,8	30,8	41,8	56,4	69,8	(mm)

Tabelle 36: 0, 4 mg DHK nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	-	4	11	14	26	34	47	57	69	81
2.)	-	-	-	-	-	6	14	18	30	40	51	60	72	85
3.)	-	-	-	-	4	4	9	12	23	31	44	55	69	85
4.)	-	-	-	-	6	12	17	28	38	50	59	70	85	-
5.)	-	-	-	-	-	8	18	24	36	49	58	71	85	-
Durchschnitt	-	-	-	-	-	6,8	13,8	19,2	30,6	40,8	51,2	62,6	76,2	- (mm)

Tabelle 37: 0, 25 mg lipophiler Extrakt/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16. Tag
Nr. 1.)	7	12	20	30	45	56	66	76
2.)	8	15	24	35	48	60	71	80
3.)	8	15	23	36	50	63	76	85
4.)	8	13	22	36	49	62	76	84
5.)	8	14	23	34	47	60	70	79
Durchschnitt	7,8	13,8	22,4	34,2	47,8	60,2	71,8	80,8 (mm)

Tabelle 38: 0, 5 mg lipophiler Extrakt/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18. Tag
Nr. 1.)	-	9	16	25	33	44	54	63	71
2.)	-	9	15	23	34	43	52	66	76
3.)	-	6	11	20	29	38	50	61	70
4.)	-	8	14	23	32	41	52	66	74
5.)	4	10	16	24	33	43	53	67	74
Durchschnitt	-	8,4	12,4	23,0	32,2	41,8	53,8	64,6	73,6 (mm)

Tabelle 39: 1, 0 mg lipophiler Extrakt/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28.	30.	32.	34.	36.	38. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	9	12	20	25	35	41	51	54	58	60	61	62	62	62	62
2.)	-	-	-	5	6	8	11	17	25	30	37	44	50	53	57	58	60	61	61
3.)	-	-	-	-	7	15	22	29	35	46	52	56	57	58	59	59	59	59	59
4.)	-	-	-	-	8	10	16	23	28	33	39	42	45	48	50	52	54	54	54
5.)	-	-	-	-	8	11	18	25	30	34	41	45	49	53	56	58	60	60	60
Durchschnitt	-	-	-	-	7,6	10,0	16,0	22,4	29,4	34,6	42,8	47,4	51,6	54,2	56,4	57,8	58,0	58,2	58,2 (mm)

Tabelle 40: 1, 2 mg lipophiler Extrakt/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28.	30.	32.	34.	36.	38. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	-	5	10	16	18	23	28	35	38	44	50	56	59	62	62
2.)	-	-	-	-	-	7	10	13	16	22	26	34	38	42	48	55	59	62	62
3.)	-	-	-	-	-	-	4	8	11	16	20	28	34	38	42	46	52	53	53
4.)	-	-	-	-	-	5	9	14	16	22	26	30	35	41	45	49	53	55	55
5.)	-	-	-	-	-	4	6	10	14	18	24	26	32	37	41	43	48	50	50
Durchschnitt	-	-	-	-	-	4,2	7,8	12,2	15,0	20,2	25,6	30,6	35,4	40,5	45,2	49,8	54,2	56,4	56,4 (mm)

Tabelle 41: 1,4 mg lipophiler Extrakt/ml

Versuch	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28.	30.	32.	34.	36.	38.	40. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	-	-	-	-	8	8	10	15	16	18	20	21
2.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	8	12	13	14	17	18
3.)	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7	10	13	14	16	18	18
4.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	7	10	12	13	14	16
5.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	6	7	10	12	14	17
Durchschnitt	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	5,4	8,2	11,4	13,0	14,6	16,6	18,0 (mm)

Tabelle 42: 2,0 mg ätherisches Öl/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12. Tag
Nr. 1.)	10	19	38	48	65	77
2.)	11	24	40	54	71	82
3.)	12	24	39	52	68	80
Durchschnitt	11,0	22,3	39,0	51,3	68,0	79,6 (mm)

Tabelle 43: 5,0 mg ätherisches Öl/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	-	10	25	39	55	70	78
2.)	-	9	25	39	52	70	80
3.)	-	9	24	39	51	69	78
Durchschnitt	-	9,3	24,6	39,0	52,6	69,6	78,6 (mm)

Tabelle 44: 8,0 mg ätherisches Öl/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	13	30	38	48	60	70	74	75
2.)	-	-	-	11	26	37	46	60	70	75	76
3.)	-	-	-	12	27	38	47	61	71	75	75
Durchschnitt	-	-	-	12,0	27,6	37,6	47,0	60,3	70,3	74,6	75,3 (mm)

Tabelle 45: 10.0 mg ätherisches Öl/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	-	10	24	35	46	57	64	72	77	77
2.)	-	-	-	-	-	8	21	33	43	55	62	69	72	74
3.)	-	-	-	-	6	13	27	37	47	61	67	71	75	76
Durch-schnitt	-	-	-	-	-	10,3	24,0	35,0	45,3	57,6	64,3	70,6	74,6	75,6 (mm)

Tabelle 46: 0, 5 mg Kawain nat. + 0, 5 mg DHM nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	2o.	22.	24.	26.	28. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	8	11	13	15	15	16	17	17	19	20
2.)	-	-	-	-	-	5	7	9	9	10	10	13	14	16
3.)	-	-	-	-	9	10	11	12	13	13	13	13	13	15
4.)	-	-	-	-	5	7	9	10	11	12	15	16	17	20
5.)	-	-	-	-	-	6	7	9	9	10	13	14	14	17
6.)	-	-	-	-	-	8	8	9	10	12	15	18	18	20
7.)	-	-	-	-	9	10	10	11	13	15	17	19	20	23
8.)	-	-	-	-	9	11	12	12	13	16	18	20	22	24
9.)	-	-	-	-	9	10	10	11	12	12	14	16	17	20
10.)	-	-	-	-	6	6	8	9	10	11	13	14	15	18
Durch-schnitt	-	-	-	-	5,5	8,4	9,2	10,7	11,5	12,7	14,5	16,0	16,9	19,3 (mm)

Tabelle 47: 0, 5 mg DHM nat. + 0, 5 mg THY teilsynth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26. Tag
Nr. 1.)	11	15	25	36	44	48	54	59	63	64	64	64	64
2.)	12	16	27	36	43	50	57	61	61	61	61	61	61
3.)	9	13	24	33	42	46	53	59	64	65	66	66	66
Durch-schnitt	10,6	14,6	25,3	35,0	43,0	48,0	54,6	59,6	62,6	63,0	63,6	63,6	63,6 (mm)

Tabelle 48: 1,0 mg THY teilsynth. + 1,0 mg Methysticin nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	10	14	25	34	41	48	54	57	63	64	64
2.)	10	14	26	35	41	49	55	59	63	65	65
3.)	9	13	25	34	41	47	53	57	60	61	61
Durchschnitt	9,6	13,6	25,3	34,3	41,0	48,0	54,0	57,6	62,0	63,3	63,3 (mm)

Tabelle 49: 1,0 mg Yangonin nat. + 1,0 mg Methysticin nat./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16. Tag
Nr. 1.)	13	20	30	43	55	67	71	75
2.)	14	20	31	43	54	67	76	81
3.)	12	18	30	42	53	65	70	73
Durchschnitt	13,0	19,3	30,3	42,6	54,0	66,3	72,3	76,3 (mm)

Tabelle 5o: 0,5 mg Kawain nat. + 0,5 mg THY teilsynth./ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	8	14	19	25	32	37	40	43	45	47	47
2.)	-	-	-	7	16	22	28	33	38	42	46	49	51	51
3.)	-	-	-	6	11	19	25	32	38	44	48	51	53	53
Durchschnitt	-	-	-	7,0	13,6	20,0	26,0	32,3	37,6	42,0	45,6	48,3	50,3	50,3 (mm)

Tabelle 51: Substanzzusammenstellung 3 mg Droge/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14. Tag
Nr. 1.)	6	11	24	37	50	63	82
2.)	7	14	26	41	51	66	83
3.)	6	10	23	37	49	62	82
Durchschnitt	6,3	11,6	24,3	38,3	50,0	63,6	82,3 (mm)

Tabelle 52: Substanzzusammenstellung 5 mg Droge/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16. Tag
Nr. 1.)	-	7	15	27	38	51	61	77
2.)	-	7	15	26	36	50	60	77
3.)	-	8	16	29	41	53	62	78
Durchschnitt	-	7,3	15,3	27,3	38,3	51,3	61,0	77,3 (mm)

Tabelle 53: Substanzzusammenstellung 8 mg Droge/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18. Tag
Nr. 1.)	-	6	11	19	29	41	49	59	77
2.)	-	5	10	19	30	42	50	63	79
3.)	-	5	11	20	29	39	46	59	76
Durchschnitt	-	5,2	10,6	19,3	29,3	40,6	48,3	60,3	77,3 (mm)

Tabelle 54: Substanzzusammenstellung 10,0 mg Droge/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18	20.	22.	24. Tag
Nr. 1.)	-	-	8	14	20	30	36	46	53	64	73	85
2.)	-	-	6	12	19	29	34	45	53	62	72	84
3.)	-	-	5	10	17	27	33	45	52	60	70	80
Durchschnitt	-	-	6,3	12,0	18,6	28,6	34,3	45,3	52,6	62,0	71,6	83,0 (mm)

Tabelle 55: Substanzzusammenstellung 20 mg Droge/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28.	30.	32. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	-	6	7	8	10	13	18	21	25	31	33	38
2.)	-	-	-	-	-	6	7	7	8	11	15	19	22	29	33	38
3.)	-	-	-	-	-	7	8	9	12	15	19	22	27	31	35	41
Durchschnitt	-	-	-	-	-	6,3	7,3	8,0	10,0	13,0	17,3	20,6	24,6	30,3	33,6	39,0 (mm)

Tabelle 56: 2,0 mg Substanz A/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10. Tag
Nr. 1.)	14	31	49	65	78
2.)	14	30	48	63	78
3.)	13	28	47	62	76
Durchschnitt	13,3	29,6	48,0	63,3	77,3 (mm)

Tabelle 57: 0,5 mg Substanz B/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24. Tag
Nr. 1.)	-	10	23	32	40	48	52	55	57	59	59	59
2.)	7	13	25	34	43	50	56	62	65	68	68	68
3.)	8	14	26	35	45	52	58	65	67	67	67	67
4.)	8	16	28	37	47	53	58	64	66	68	70	70
5.)	6	15	26	36	44	50	55	62	64	65	65	65
Durchschnitt	5,8	13,6	25,6	34,8	43,8	50,6	55,8	61,6	63,8	65,4	65,8	65,8 (mm)

Tabelle 58: 1,0 mg Substanz B/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	-	5	7	9	9	9	9	9
2.)	-	-	-	-	6	8	8	9	10	12	12
3.)	-	-	-	-	-	5	6	8	8	8	8
4.)	-	-	-	-	-	6	6	8	10	10	10
5.)	-	-	-	-	5	7	7	8	9	10	10
Durchschnitt	-	-	-	-	3,3	6,6	7,3	8,4	9,2	9,8	9,8 (mm)

Tabelle 59: 0,5 mg Substanz C/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	9	20	29	40	47	57	65	74	74	74	74
2.)	9	19	29	39	46	53	62	72	76	76	76
3.)	8	18	28	38	45	54	63	71	72	73	73
4.)	8	17	27	39	46	54	64	70	73	73	73
5.)	7	16	25	37	44	52	62	68	71	73	73
Durchschnitt	8,2	18,0	27,6	38,6	45,6	54,0	63,2	71,0	73,2	73,8	73,8 (mm)

Tabelle 60: 1,0 mg Substanz C/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	7	16	25	34	41	51	57	62	65	65	65
2.)	8	17	29	37	44	52	58	62	64	64	64
3.)	6	13	22	31	39	45	50	53	55	55	55
4.)	6	14	23	31	39	46	50	54	57	57	57
5.)	8	16	26	33	42	50	56	60	64	64	64
Durchschnitt	7,0	15,2	25,0	33,2	41,0	48,8	54,2	58,2	61,0	61,0	61,0 (mm)

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	-	12	20	31	37	43	47	51	52	53	53
2.)	-	14	26	33	39	45	49	52	54	57	57
3.)	-	13	20	32	39	46	50	54	57	59	59
4.)	-	10	19	30	37	44	48	52	54	56	56
5.)	-	15	26	35	42	48	50	53	55	56	56
Durch-schnitt	-	12,4	22,2	32,2	38,8	45,2	48,8	52,4	54,4	56,2	56,2 (mm)

Tabelle 62: 0,5 mg Substanz D/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20. Tag
Nr. 1.)	-	9	17	27	35	44	53	61	69	76
2.)	-	10	17	28	35	45	55	62	73	84
3.)	-	8	15	25	32	43	51	59	66	73
4.)	-	9	16	28	36	45	53	59	67	74
5.)	-	10	17	29	35	44	55	60	71	82
Durch-schnitt	-	9,2	16,4	27,4	34,6	44,2	53,4	60,2	69,2	77,8 (mm)

Tabelle 63: 1,0 mg Substanz D/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22. Tag
Nr. 1.)	-	-	7	12	22	32	41	49	57	66	74
2.)	-	-	5	11	21	30	40	49	58	68	73
3.)	-	-	8	14	23	32	43	51	57	65	72
4.)	-	-	6	13	23	33	42	50	56	63	70
5.)	-	-	9	16	26	35	44	53	62	69	77
Durch-schnitt	-	-	7,0	13,2	23,0	32,4	42,0	50,4	58,0	66,2	73,2 (mm)

Tabelle 64: 2,0 mg Substanz D/ml

Versuch	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28. Tag
Nr. 1.)	-	-	-	5	13	18	23	29	38	46	55	61	69	72
2.)	-	-	-	-	5	14	20	27	36	46	56	63	72	76
3.)	-	-	-	-	-	10	18	25	35	42	53	58	67	71
4.)	-	-	-	6	16	22	27	32	41	49	59	63	70	75
5.)	-	-	-	7	17	24	28	33	38	49	60	65	74	78
Durchschnitt	-	-	-	3,6	10,2	17,6	23,2	29,2	37,6	46,4	56,6	62,0	70,4	74,4 (mm)

Tabelle 65: Die Durchmesser der Makrokolonien von Aspergillus niger, die unter Einfluß verschiedener Konzentrationen der synthetischen und halbsynthetischen Substanzen 1 - 24 wuchsen.
Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus je 3 Versuchen.

Substanz Nr.	Konz. (mg/ml)	Tage 2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.
1+	0,2	9,2	13,4	24,0	36,0	48,2	62,2	76,8					
2	1,0	13,6	32,3	50,3	66,3	78,3	-						
	2,0	12,3	29,3	42,0	53,0	66,6	75,6						
3	1,0	12,3	30,3	48,6	65,3	78,0	-						
	2,0	11,0	26,3	39,3	52,0	66,6	76,6						
4	2,0	13,0	31,6	50,6	65,3	79,0	-						
5	2,0	13,0	29,6	49,0	67,0	78,0							
6	2,0	9,6	23,0	37,3	49,0	62,3	72,3	80,6					
7	2,0	11,3	25,0	38,6	52,0	64,6	74,3	83,0					
8	2,0	12,0	26,3	39,3	53,6	67,0	79,0	-					
9	2,0	11,6	24,6	38,6	53,0	65,3	76,6	-					
10	0,5	8,6	18,3	37,6	57,0	75,3	-						
	1,0	-	-	20,3	38,3	57,0	73,3	82,3					
11	2,0	-	10,0	17,3	25,3	34,6	41,0	51,3	59,3	65,6	68,3	69,3	69,3
12	2,0	7,6	17,3	28,3	36,3	45,0	52,3	58,0	61,3	63,6	65,0	65,0	-
13	2,0	13,3	30,0	50,0	66,3	76,3							
14	2,0	13,6	33,6	51,0	66,0	79,3							
15	2,0	14,0	31,3	50,6	67,6	80,3							

+ = Mittelwerte aus 5 Versuchen

Tabelle 65, Fortsetzung

Substanz Nr.	Konz. (mg/ml)	Tage 2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28.	30.
16	2,0	13,3	30,0	49,6	67,0	79,6										
17	2,0	14,3	31,6	50,6	67,0	79,0										
18	2,0	-	-	18,3	36,0	51,3	67,0	77,6								
19	2,0	8,6	12,3	20,3	29,6	40,0	50,3	60,6	76,3							
20	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,6	26,3	39,3	56,3	73,6
21	0,1	6,6	15,3	28,6	45,3	60,3	73,6									
22	0,5	-	-	-	-	12,3	29,3	48,3	62,0	76,6						
23	0,1 0,25	6,6 -	20,0 -	35,3 -	49,6 8,3	63,3 21,6	75,3 36,3	57,6	78,6							
24	2,0	10,0	19,3	29,6	40,3	52,3	65,6	76,3								

2.8 Synthese der Substanzen A - D

2.8.1 Allgemeines

Dünnschichtchromatographie: Die Reaktionsprodukte der Synthesen von Verbindung A, B, C und D wurden dünnschichtchromatographisch untersucht. Wir benutzten dabei Glasplatten von 20 x 20 cm Größe, die mit Kieselgel HF_{254} "Merck" in etwa 0,3 mm Dicke beschichtet waren (Streichgerät nach STAHL der Firma DESAGA).
Aktivierung und Entwicklung der Platten erfolgten nach den von STAHL (1962) angegebenen Standardbedingungen.
Als Laufmittel diente Cyclohexan/Essigester 1 : 1 (v/v).
Unter kurzwelligem UV-Licht (260 nm) sind die Kawapyrone des DHK-Typs als dunkle Flecke bei R_F= 0,32 zu erkennen.
Nach Ansprühen mit Anisaldehyd-Phosphorsäure (5 ml Phosphorsäure und 5 ml Anisaldehyd in 90 ml 95 %-igem Äthanol gelöst) und Erhitzen auf 100-110°C (10 Min.) zeigen die Flecke bei Tageslicht eine gelbe Färbung, unter langwelligem UV-Licht (350 nm) eine dunkle Farbe.

Die Mikroanalysen wurden im Analytischen Kontrollabor der Firma Schering A.G., Berlin ausgeführt.
Die UV-Spektren wurden mit einem Zeiss-Spektrophotometer PMQ II aufgenommen (Quarzküvetten von 1,000 cm Durchmesser), die IR-Spektren mit einem Unicam-Spektrophotometer SP 200 G (KBr-Preßlinge).
Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian-Kernresonanzspektrometer A 60 aufgenommen+), wobei TMS als interner Standard diente. Die Schmelzpunkte bestimmten wir auf einem KOFLER Heiztisch-Mikroskop; sie sind nicht korrigiert.

+) Für die Aufnahme der NMR-Spektren danken wir Herrn Dr. Rehse, Wissenschaftlicher Assistent am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin.

REFORMATZKY-Reaktion: Das innerhalb der REFORMATZKY-Reaktion benutzte Zink wurde vor Gebrauch stets in folgender Weise frisch aktiviert: Zinkstaub der Firma Riedel de Haën wurde durch Übergießen mit 10 % HCl von der Oxydschicht befreit und anschließend mehrmals mit Aqua dest. gespült. Nacheinander wurde das Zink mit Methanol, Aceton, Äther gewaschen, durch gelindes Erwärmen vom Äther befreit und 15 Min. lang bei 100°C im Heizschrank getrocknet.
Alle Lösungsmittel der REFORMATZKY-Reaktion wurden vor Gebrauch besonders gereinigt und getrocknet.
Tetrahydrofuran wurde mit etwa der Hälfte seines Gewichtes an festem KOH (rotuli) versetzt und eine Stunde lang am Rückfluß gekocht. Das Lösungsmittel wurde anschließend abdestilliert, wobei nur der Hauptlauf vom Siedepunkt 66°C aufgefangen wurde. Er wurde nach Zusatz von wenig Lithiumhydrid 2 Tage lang am Rückfluß gekocht, abermals destilliert und über Natrium völlig getrocknet.
Benzol wurde dreimal mit konz. H_2SO_4 (96 %) geschüttelt, danach dreimal mit Aqua dest. gewaschen und über Na_2SO_4 sicc. vorgetrocknet. Nach einer Passage über Al_2O_3 Woelm, basisch, Aktivitätsstufe I wurde das Benzol über Natriummetall 1 Stunde lang am Rückfluß gekocht und schließlich bei 80°C, 760 Torr abdestilliert.

2.8.2 Synthese von A (4-Methoxy-6-phenyl-5, 6-dihydro-pyron-2)

2,0 g Zinkstaub wurde in 60 ml Benzol vorgelegt und auf etwa 80°C erwärmt. Anschließend wurde ein Jod-kristall als Katalysator zugesetzt und unter Umrühren eine Mischung von 3, 1 g Benzaldehyd und 8,0 g γ-Brom-β-methoxy-crotonsäureäthylester+) in 30 ml Benzol zugetropft. Nach Beendigung der stürmischen Reaktion wurde noch 3 Stunden lang bei der Siedetemperatur des Benzols gerührt. Die Reak-

---

+) Wir danken der Firma Spezialchemie GmbH & Co, München, für die Überlassung von Versuchsmengen dieser Substanz.

tionslösung wurde dann vom Bodensatz abfiltriert und lieferte nach Abdestillieren des Benzols ein kristallines Produkt, das 2 x aus Chloroform-Methanol umkristallisiert wurde. Es wurden 3, 3 g farbloser, prismenförmiger Kristalle vom Schmelzpunkt 147-148°C gewonnen. (Lit. REID u. RULEY, 1951: 143-144°C, HENBEST u. JONES, 1950: 146-147°C.) Ausbeute: 54, 3 % der Theorie.

Elementaranalyse:
$C_{12}H_{12}O_3$ (204, 2)

Gef.:	C 70, 82	H	5, 86	OCH_3	14, 65
Ber.:	C 70, 57	H	5, 92	OCH_3	15, 19

UV-Spektrum

	λ min. 220		λ max. 235	Lit.	λ max.	235 nm
	ε min. 6892		ε max. 10126		ε max.	12000 $1\,Mol^{-1}\,cm^{-1}$
log	ε min. 3, 83	log	ε max. 4, 00			

(HENBEST und JONES, 1950)

$c = 5, 88 \cdot 10^{-5}\ Mol \cdot l^{-1}$ in Äthanol

IR-Spektrum: (s=starke, m=mittelstarke und w=schwache Bande)

679w	703m	762m	829w	854m	933w	970w	1000m	1027m
1038m	1070m	1070m	1083w	1181m	1233s	1240s	1249s	1294m
1367m	1388 s	1417w	1442m	1459m	1502w	1605w	1622s	1627s
1713s	1721s	2855w	2910 w	2945w	2980w	3060w	3080w	($\nu \cdot cm^{-1}$)

2.8.3 Synthese von B (4-Methoxy-6-benzyl-5, 6-dihydro-pyron-2)

Eine handelsübliche Mischung von Phenylacetaldehyd und Diäthylphtalat 1 : 1 +) wurde der Hochvakuumdestillation unterworfen. Die bei 0, 7 Torr

+) Wir danken der Firma Haarmann und Reimer GmbH, Holzminden, für die Überlassung von Versuchsmengen ihres Produktes.

übertretenden noch gelb-grün gefärbten Fraktionen zwischen 42 und 52°C wurden aufgefangen und erneut destilliert. Bei der zweiten Destillation ging zwischen 42 und 46°C (0,7 Torr) ein nahezu farbloses Destillat über, von dem sofort 3,6 g mit 8,0 g γ-Brom-β-methoxycrotonsäureäthylester analog der Synthese von Verb. A umgesetzt wurden, wobei wiederum Benzol als Lösungsmittel diente. Nach dem Abfiltrieren des Bodensatzes und dem Abdestillieren des Benzols hinterblieb ein gelb-braunes Öl (8,8 g), das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Auftrennung des Reaktionsproduktes

Jeweils die Hälfte des Öles wurde auf eine Säule von 3,2 cm Ø gebracht, in die 70 g Kieselgel "Merck" (0,05-0,2 mm, für die Säulenchromatographie) mit Benzol eingeschlämmt worden waren. Es wurde zunächst so lange mit Benzol entwickelt, bis nach dem Auslaufen gelb-brauner Fraktionen wieder ein farbloses Eluat anfiel. Dazu waren etwa 300 ml Benzol nötig, bei einer Tropfgeschwindigkeit von 90 Tropfen/Min. Dann wurde mit Benzol-Essigester-Gemischen (die steigenden Essigesteranteil enthielten) eluiert und schließlich mit reinem Essigester. Es wurden Fraktionen zu 10 ml aufgefangen, die dünnschichtchromatographisch auf das Vorhandensein des gesuchten Stoffes geprüft wurden, wobei synthetisches DHK als Vergleichssubstanz diente. Kurz nach dem Auslaufen der letzten, gelb gefärbten Zone aus der Säule wurden 6 Fraktionen aufgefangen, die die gewünschte Verbindung in hoher Anreicherung enthielten. Sie wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit.

Das resultierende, gelbe Öl wurde erneut an Kieselgel chromatographiert. Daten der Säule: Ø 3,2 cm, Füllung: 140 g Kieselgel "Merck" (0,05-0,2 mm), mit Essigester-Cyclohexan 1 : 1 eingeschlämmt. Bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 40 Tropfen / Min. entwickelten wir mit Essigester-Cyclohexan 1 : 1 und fingen 10 ml-Fraktionen auf.

Nach dem Durchlauf von etwa 520 ml Lösungsmittel trat die gesuchte Substanz in 40 ml Eluat dünnschichtchromatographisch rein auf. Das nach Abdestillieren des Lösungsmittels zurückbleibende, farblose Öl (0,48 g) kristallisierte nach 24 Stunden im Eisschrank durch. Zweimaliges Umkristallisieren aus Äther erbrachte 0,32 g farbloser Nadeln vom Schmelzpunkt 69-70°C.
Ausbeute: 8,5 % der Theorie.

Elementaranalyse:

$C_{13}H_{14}O_3$ (218,24)

Gef.:	C 71,20	H 6,36	OCH_3 13,73
Ber.:	C 71,54	H 6,47	OCH_3 14,22

UV-Spektrum:

	λ min. 220	λ max. 233 nm	
	ε min. 7623	ε max. 11146	$1\ Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$
log	ε min. 3,88	log ε max. 4,04	

$c = 6,415 \cdot 10^{-5}$ Mol $\cdot\ 1^{-1}$ in Äthanol.

IR-Spektrum: (s=starke, m=mittelstarke und w= schwache Bande.)

679m	700s	748w	753m	860m	877m	895w	972w	955s
1022w	1032w	1052s	1083m	1159w	1180w	1210s	1245s	1292m
1307w	1365m	1391s	1425w	1440m	1450w	1455m	1460m	1497m
1605w	1620s	1625s	1703s	1710s	1720s	2850w	2900w	2940w
2970w	2990w	3030w	3060w	3080w	($\nu \cdot cm^{-1}$).			

2.8.4 Synthese von C (4-Methoxy-6-(3-phenyl-propyl)-5, 6-dihydro-pyron-2)

a) Darstellung des γ-Phenylbutyraldehyds

Chlorierung von γ-Phenylbuttersäure

82 g γ-Phenylbuttersäure, die wir durch eine CLEMMENSEN-Reduktion aus β-Benzolpropionsäure dargestellt hatten (SOMERVILLE und ALLEN, 1943; MARTIN, 1942), wurden mit 60 g frisch destilliertem Thionylchlorid unter Feuchtigkeitsabschluß am Rückfluß gekocht bis keine Gasentwicklung mehr auftrat. Das überschüssige Thionylchlorid wurde dann auf dem Wasserbad abdestilliert.
Die zurückbleibende Reaktionslösung, die inzwischen eine tiefbraune Färbung angenommen hatte, wurde anschließend im Hochvakuum destilliert. Es wurde die Fraktion, die beim Druck von 1 Torr zwischen 73 und 76°C als farblose Flüssigkeit überging, aufgefangen. (Lit.: Kp. 104-106°C / 15 Torr; STOERMER, 1906)
Pro Ansatz wurden etwa 57 g erhalten, das sind 51, 2 % der theoretischen Ausbeute.

Reduktion zu γ-Phenylbutyraldehyd

Ein 2 l-Dreihalskolben wurde mit einem gasdichten Rührer, einer H_2-Gaszuleitung sowie einem Rückflußkühler versehen, der über ein Gastrockenrohr mit einem Vorlagegefäß verbunden war. In den Kolben wurden 4 g frisch hergestellter 5 %-iger Pd-$BaSO_4$-Katalysator (MOZINGO, 1946), 30 g Phenylbuttersäurechlorid sowie 150 ml trockenes Xylol eingefüllt. Nach Hinzufügen von 20 mg Chinolin S (ROSENMUND u. ZETSCHE, 1921) als Katalysatorgift wurde H_2-Gas durch die Reaktionslösung geleitet, um die Luft aus dem System zu verdrängen.
Anschließend wurde zur Siedetemperatur des Xylols erhitzt und unter Umrühren weiter H_2-Gas eingeleitet, das nach Passieren des Reaktionsgemisches über Kühler und Trockenrohr in die mit Wasser gefüllte Vorlage perlte. Die Einleitungsgeschwindigkeit betrug etwa 3 Blasen/sec. (an der Vorlage abgelesen).

Das im Laufe der Reaktion gebildete HCl-Gas wurde in der Vorlage gegen 2n NaOH titriert. In den ersten 2 Stunden wurden 25 ml NaOH verbraucht, in weiteren 6 Stunden nur noch 35 ml (= insgesamt 2/3 des theoretischen Verbrauches), so daß nach Ablauf dieser Zeit die Gaseinleitung abgebrochen wurde.
Nach dem Abkühlen der Reaktionslösung wurde vom Katalysator abfiltriert und die schwach gelb gefärbte Flüssigkeit zur Entfernung des restlichen Säurechlorids erst 2 x mit 5 % $NaHCO_3$-lösung, dann 2 x mit Wasser ausgeschüttelt. Die Lösung wurde über Na_2SO_4 sicc. getrocknet und vom Xylol unter vermindertem Druck befreit. Der orangegelb gefärbte, ölige Rückstand (22, 2 g) wurde dann im Hochvakuum an einer VIGREUX-Rektifizierkolonne von 20 cm Länge destilliert. Zwei Fraktionen, die den Aldehyd enthalten mußten, wurden aufgefangen: Fraktion I bei 0, 1 Torr zwischen 81 und 83°C = 4, 8 g farbloses Öl und Fraktion II bei 0, 05 Torr zwischen 66 und 68°C = 3, 6 g gelb gefärbtes Öl. (Lit.: Kp. 119° /9 Torr; RUPE, 1912.)
Ausbeute: 34, 5 % der Theorie.

b) Umsetzung zu 4-Methoxy-6-(3-phenyl-propyl)-5, 6-dihydro-pyron-2

4, 4 g γ-Phenylbutyraldehyd wurden mit 8, 0 g γ-Brom-β-methoxycrotonsäureäthylester in 90 ml Tetrahydrofuran analog der Synthese von Verbindung A umgesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde nach Abfiltrieren des Bodensatzes zu 200 ml gesättigter NH_4Cl-lösung gegeben, worauf sich 2 Phasen bildeten: Die Tetrahydrofuranphase wurde abgetrennt, die wäßrige mehrmals mit $CHCl_3$ ausgeschüttelt.
Nach ihrer Vereinigung wurden die organischen Lösungen über Na_2SO_4 sicc. getrocknet und anschließend eingedampft. Es blieben 8, 2 g eines dunkelbraunen, zähflüssigen Öles zurück, das wie bei der Gewinnung von Substanz B (s. dort) durch wiederholte Passage über Kieselgelsäulen aufgearbeitet wurde.
Dabei fielen 0, 59 g Rohkristalle vom Schmelzpunkt 72-77°C an, aus denen nach Umkristallisieren aus Äther 0, 49 g farbloser, prismati-

scher Kristalle vom Schmelzpunkt 78-79° gewonnen wurden.
Ausbeute: 6,61 % der Theorie.

Elementaranalyse:

$C_{15}H_{18}O_3$ (246,3)

Gef.:	C	73,26	H	7,44	OCH_3 11,91
Ber.:	C	73,14	H	7,37	OCH_3 12,60

UV-Spektrum:

λ min. 221		λ max. 234 nm	
ε min. 6822		ε max. 10418	1 $Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$
log ε min. 3,83		log ε max. 4,01	

$c = 4,06 \cdot 10^{-4}$ Mol $\cdot$ l^{-1} in Äthanol.

IR-Spektrum: (s=starke, m=mittelstarke und w=schwache Bande)

652w	702m	757m	822w	842w	857m	876w	890w	956w
992m	1000m	1005m	1022m	1038w	1054m	1072m	1100m	1180m
1210m	1226s	1249s	1256s	1291m	1326w	1337w	1355w	1380m
1403s	1440m	1454m	1462m	1495w	1583w	1605w	1626s	1632s
1683m	1693s	1700s	1704s	1710s	2850w	2870w	2920m	2940m
2990w	3030w	3060w	3080w	($\nu \cdot cm^{-1}$).				

2.8.5 Synthese von D (4-Methoxy-6-(4-phenyl-butyl)-5,6-dihydro-pyron-2)

Darstellung des 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butadienyl)-pyron-2

Zu einer Lösung von 8 g Mg-Spänen in 400 ml p. a. Methanol wurden 20 g Methyltriacetsäurelacton (BU' LOCK und SMITH, 1960) und 18,8 g Zimtaldehyd gegeben. Es wurde 4 Stunden lang unter Umrühren am Rückfluß gekocht, sodann das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand eine halbe Stunde lang unter Kühlung mit 19 %-iger HCl behandelt. Aus

dem Reaktionsgemisch konnte durch Ausschütteln mit $CHCl_3$ eine gelbe Masse herausgelöst werden, die nach zweimaligem Umkristallisieren aus $CHCl_3$ etwa 5 g feiner, gelber Kristalle vom Schmelzpunkt 189-193°C lieferte.
Ausbeute: 13, 8 % der Theorie.

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{14}O_3$ (254, 28)

Gef.:	C	75, 67	H	6, 05	OCH_3 11, 89
Ber.:	C	75, 57	H	5, 55	OCH_3 12, 20

Hydrierung zu 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butyl)-5, 6-dihydro-pyron-2

1, 5 g 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butadienyl)-pyron-2 wurden in 50 ml Essigester (alkohol- und wasserfrei) suspendiert und unter Zusatz von 0, 7 g 5 %-iger Palladium-Kohle als Katalysator hydriert.
Bei Zimmertemperatur nahm das Reaktionsgemisch nur 200 ml H_2 auf (etwa die Hälfte der theoretischen Menge), weshalb bei 50°C weiter hydriert wurde bis insgesamt 540 ml H_2 (Theorie 428 ml) aufgenommen waren. Dauer der Hydrierung 60 Stunden. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert und die Lösung eingedampft. Nach Zusatz einiger ml Äther kristallisierte der ölige Rückstand im Eisschrank.
Dreimaliges Umkristallisieren aus Äther ergab 0, 7 g farbloser, würfelförmiger Kristalle vom Schmelzpunkt 68-69°C.
Ausbeute: 45, 6 % der Theorie.

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{20}O_3$ (260, 32)

Gef.:	C	74, 23	H	7, 61	OCH_3 11, 73
Ber.:	C	73, 81	H	7, 74	OCH_3 11, 92

UV-Spektrum:

λ min.	221	λ max.	233 nm	
ε min.	8333	ε max.	11638	$1\ Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$
log ε min.	3,92	log ε max.	4,06	

$c = 6,144 \cdot 10^{-5}$ Mol $\cdot$ l^{-1} in Äthanol.

IR-Spektrum: (s=starke, m=mittelstarke und w= schwache Bande)

695w	715w	742m	780w	851m	858w	877w	895w	953w
998m	1004m	1023w	1032m	1065m	1079m	1105m	1185m	1205m
1217s	1240s	1252m	1275w	1302w	1323w	1347w	1382m	1400m
1445m	1453m	1465m	1500m	1582w	1605w	1626s	1630s	1695s
1700s	1703s	2860w	2890w	2910w	2940m	2980w	3020w	3040w
3060w	3080w	($\nu \cdot cm^{-1}$).						

VI. DISKUSSION

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen nachdrücklich, daß es lohnend ist, offenen Problemen volksheilkundlicher Therapie mit modernen Methoden nachzugehen. Es gelang, dem schon recht umfangreichen Wirkungsspektrum der Kawapyrone einen weiteren wichtigen Effekt, den Pilzantagonismus, hinzuzufügen.

Die dem Kawarhizom nachgesagte antibakterielle Wirkung konnte dagegen nicht bestätigt werden.

Von den insgesamt 21 Bakterienarten, deren Wachstumsbeeinflussung durch Kawapulver im Lochplattentest geprüft wurde, zeigten nur 2, nämlich Bacillus subtilis und Neisseria catarrhalis, eine geringfügige Hemmung. Angesichts der nur 2-3 mm breiten Hemmzonen und angesichts des nur bei zwei Organismenarten auftretenden Effektes kann von einer allgemeinen, antibakteriellen Aktivität des Kawarhizoms in vitro kaum gesprochen werden.

Das Gleiche gilt für die unbedeutenden Keimzahlverminderungen, die von allen geprüften Reinstoffen des Kawarhizoms nur das Kawain, und zwar erst in der höchstmöglichen Konzentration in Nährbouillon bei Escherichia coli und Staphylococcus aureus verursachte. "Ausgeprägte, bakterizide Eigenschaften", wie sie von LECLERC (1937) für das Kawarhizom bzw. das Kawaharz berichtet werden, hätten in den vorstehenden Versuchen, die der geringen Wasserlöslichkeit der Inhaltsstoffe soweit als möglich Rechnung trugen, sicherlich stärker in Erscheinung treten müssen. Man hat eher den Eindruck, daß es sich bei den älteren Beschreibungen antibakterieller Wirkungen, z. B. den von LECLERC (1937) zitierten Arbeitsergebnissen MARPMANNs, um Fehlschlüsse aufgrund unzureichender Versuchsanordnungen handelt. Da bei LECLERC (1937) keine Angaben über die genauen Versuchsbedingungen der MARPMANN-Arbeiten gemacht werden, ist man in ihrer Beurteilung nur auf Vermutungen angewiesen: Wenn es bei LECLERC (1937) heißt, ..."eine Lösung des Kawaharzes 1 : 100 auf die Mitte einer Gonokokkenkultur

gegeben", hätte "die Entwicklung verhindert", so kann bei der geringen Wasserlöslichkeit des Kawaharzes nur eine alkoholische oder mit einem anderen organischen Lösungsmittel angefertigte Lösung verwendet worden sein. Daß hierbei die inhibitorische Eigenwirkung des Lösungsmittels den Effekt ausgelöst haben dürfte, ist nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit stark anzunehmen. Es zeigte sich, daß Kulturen von Neisseria gonorrhoeae äußerst empfindlich und schwer zu ziehen sind. Auch bei Gabe optimaler Bedingungen (Kochblutplatten, angereicherte CO_2-Atmosphäre) gelang die Weiterzüchtung frisch isolierter Stämme nur über 1-2 Passagen, und das Wachstum war dabei so schwach, daß es durch geringste Änderungen in den Kulturbedingungen sofort zum Erliegen gebracht wurde.
Unter diesen Gesichtspunkten erscheint die Angabe bei LECLERC (1937) im höchsten Grade fragwürdig.

Das bisher Gesagte gilt, wohlgemerkt, einzig für eine antibakterielle Wirkung von Kawa in *vitro*. Ob nun trotzdem durch Kawapulver in *vivo* ein antibakterieller Effekt zustande kommt, kann nur nach Fütterungsversuchen an Tieren festgestellt werden.
Derartige Unterschiede zwischen der Wirkung in vivo und in vitro sind durchaus bekannt: Es sei z. B. an Prontosil, Ester des Chloramphenicols sowie an N-Acetylderivate einiger Sulfonamide erinnert, die nur in vivo, nicht aber in vitro antibakteriell wirken (WALTER u. HEILMEYER, 1965). Die Verbindungen werden in diesen Fällen im Laufe der Körperpassage biochemisch umgebaut. Trotzdem dürften solche Fälle selten sein; und bei der Kawadroge gibt es einige Anhaltspunkte, die nicht für eine solche These sprechen: Es sind Behandlungsversuche und Berichte über die innerliche Anwendung von Kawa, bzw. kawahaltigen Galenica, die eher eine symptomatische als eine chemotherapeutische Wirksamkeit vermuten lassen. DUPOUY (1876) verwendete wäßrige Kawaauszüge zur Behandlung der Gonorrhoe. Am 22. Behandlungstage konnte er Beseitigung der Schmerzen und des Harndranges konsta-

tieren. SANNÉ (1886) benutzte Pillen aus wäßrig-alkoholischen Kawaextrakten und hebt hervor, daß zuerst die Schmerzen schwanden, dann die Eiterungen nachließen. Während bei diesen Berichten noch von vollständigen Heilungen gesprochen wird, ohne daß man Näheres über die Beobachtungsdauer erfährt, legen spätere Berichte nur noch Gewicht auf die Feststellung, daß verschiedene Gonorrhoe-Symptome durch Kawa gebessert werden. LECLERC (1937) z. B. verschaffte einem Patienten, dessen entzündete und verhärtete Harnröhre Sitz starker Schmerzen war, Erleichterung, indem er ihm kawahaltige Pillen verabreichte. Derselbe Autor schätzt die Droge allgemein als Sedativum bei schmerzhaften Erscheinungen der Gonorrhoe.

Genauere Untersuchungen, die auch auf die mikrobiologischen Befunde über Vorhandensein oder Schwinden der Gonokokken im Verlauf der Medikation eingehen, wurden erstmals von SAAR (1905) gemacht. Er probierte an einer größeren Zahl von Patienten eine oral anwendbare Spezialität aus ("Gonosan"), die 20 % Kawaharz und 80 % Sandelholzöl enthielt und kommt zu dem Schluß, daß diese Spezialität kaum einen Einfluß auf jene Erreger hat und höchstens einige Symptome der Krankheit günstig beeinflussen kann. Noch weiter gehen SCHINDLER und SIEBERT (1906), Schüler des Gonokokkenentdeckers NEISSER, in der Beurteilung dieses Mittels: Sie stellen nach eingehenden Versuchen fest, daß die innerliche Verabreichung des "Gonosans" in keiner Weise die Gonokokken und somit die Heilung der Gonorrhoe beeinflußt.

Nachdem durch die Arbeiten von MEYER (1960-1966) sedative, antiphlogistische,analgetische und anaesthetische Effekte der Kawapyrone bekannt geworden sind (s. Kap. IV, 2), läßt sich heute die Milderung der Beschwerden, die bei Gonorrhoebehandlung mit Kawa anscheinend auftrat, ohne weiteres als Wirkung der genannten Inhaltsstoffe erklären. Die Vermutung, daß die Kawamedikation bei Tripper eine rein symptomatische Therapie darstellte, erhält damit eine weitere, wesentliche Stütze. Daß in der Volksmedizin eine Droge mit so vielfältigen pharma-

kologischen Eigenschaften besonders geschätzt und häufig verwendet wurde ist nicht verwunderlich, zumal die Polynesier mit Ausnahme von Piper methysticum keine stark wirkenden Mittel kannten, wie andere Völker sie in Form von Opium, Coca oder Solanazeendrogen besaßen.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit aufgefundene, erstaunliche Wirksamkeit des Kawarhizoms gegen zahlreiche Pilzarten, vor allem auch humanpathogene Dermatophyten wie Trichophyton-, Microsporum- und Sporotrichumarten etc. deutet dagegen mit mehr Berechtigung auf eine echte Kausaltherapie der Volksheilkunde hin. In diesem Zusammenhang sei an die bisher nicht weiter erforschte Hautwirkung des Kawarhizoms erinnert, die sowohl bei innerlicher, als auch bei äußerlicher Applikation (Salben, Umschläge) erfolgreich gewesen sein soll (TITCOMB, 1948).
Es ist denkbar, daß ein Teil der Hautkrankheiten, die von den Eingeborenen mit Kawa behandelt wurden, Mykosen darstellten. Nach POLEMANN (1961) hat z. B. die Sporotrichose (durch Sporotrichum schenckii hervorgerufen) ihren Verbreitungsschwerpunkt in Mittel- und Südamerika. Auch die Maduramykose kommt besonders häufig in Mittelamerika sowie in anderen tropischen und subtropischen Gebieten vor (SCHABINSKI, 1960). Ihr häufigster Erreger, Allescheria boydii, erwies sich, wie auch Sporotrichum schenckii, gegenüber Kawapulver sehr empfindlich. Ebenso sprachen alle hier geprüften Trichophyton- und Microsporumarten, die ubiquitär verbreitet sind und überall in der Welt Hautmykosen verursachen, stark auf Kawa an.
Daß eine Behandlung solcher Krankheiten mit Hilfe der Kawa erfolgreich gewesen ist, erscheint daher verständlich. Auch wenn entsprechende Human- oder Tierversuche fehlen, dürfte zumindest die äußerliche Anwendung von Kawa aller Wahrscheinlichkeit nach wirksam gewesen sein.
Bei dem Reihenversuch, der eine möglichst weit gefächerte Auswahl verschiedener Pilzarten erfassen sollte, waren Arten aus 3 der ins-

gesamt 4 Klassen des Pilzreiches (GÄUMANN, 1949) enthalten. Es zeigten sich sowohl Vertreter der phylogenetisch tiefer stehenden Phycomycetes empfindlich (Mucor-, Absidia-, Rhizopus-, Syncephalastrum-, Thamnidium- Phycomyces-, Cunninghamella- und Mortierellaarten) genauso wie Vertreter der höher entwickelten Ascomycetes (Aspergillus-, Penicillium-, Chaetomium-, und Trichophytonarten).
Auch der einzige geprüfte Vertreter der am höchsten entwickelten Pilzklasse der Basidiomycetes, die Art Polystictus versicolor, wurde durch Kawa stark gehemmt.
Während jedoch alle untersuchten Phycomyces-Vertreter stark empfindlich waren, erwiesen sich die der Ascomycetes teils stark, teils wenig oder nicht ansprechbar. Wenig empfindlich waren z. B. Botrytis- und einige Aspergillus- und Penicilliumarten, als nicht oder fast nicht empfindlich erwiesen sich Hefen der Gattungen Saccharomyces und Pichia. Überhaupt scheint darin eine gewisse Einheitlichkeit bei den hefeartigen Organismen zu bestehen, denn auch die zu den Fungi imperfecti gehörenden Hefearten der Gattungen Torulopsis, Geotrichum und Candida waren unempfindlich.
Als einzige Ausnahme ist die hochpathogene Hefe Cryptococcus neoformans zu nennen, die durch Kawa stark gehemmt wurde.
Vertreter der Fungi imperfecti erwiesen sich teilweise stark empfindlich, wie Stemphylium-, Alternaria-, Sporotrichum-, Microsporum- und Paecilomycesarten, während Phialophora-, Cladosporium-, Scopulariopsis- sowie Trichodermaarten wenig und Fusarium solani nicht empfindlich waren.
Innerhalb des Pilzsystems lassen sich demnach nur wenig Zusammenhänge zwischen verwandtschaftlicher Stellung der Pilze und ihrer Empfindlichkeit gegenüber Kawa finden.

Bei der Prüfung auf antimyzetische Eigenschaften begegneten wir, wie bei der pharmakologischen Untersuchung der Reinstoffe (Kap. IV, 2), wiederum dem Phänomen der Wirksamkeit in Abhängigkeit von der ge-

wählten Applikationsform. Wenn wir z. B. 50 mg DHK in 10 ml Nährboden gaben und die erstarrte Platte anschließend beimpften, so zeigten sich nach entsprechender Bebrütung im Pilzrasen nur geringe Hemmhöfe rund um die Kristalle (etwa 28 mm Hofdurchmesser)! Wurde aber die große Oberfläche und mit ihr die gute Verteilung des DHK in der Droge experimentell nachgeahmt, wie wir es mit den Trägerstoffadsorbaten taten, so wurde eine quantitativ viel stärkere Wirkung erreicht: Hier genügten 5 mg DHK in 10 ml Nährboden, um bei gleichen Kulturbedingungen keinerlei Wachstum zuzulassen.
Bei einem Vergleich der antimyzetischen Wirksamkeit der Droge mit derjenigen ihres Hauptwirkstoffes DHK stellten wir fest, daß die Droge etwa 50-fach stärker wirkte, als ihrem Gehalt an DHK entspricht. Diese Diskrepanz konnten wir experimentell recht gut erklären: Sie kommt durch den hohen Dispersitätsgrad des DHK in der Droge sowie durch synergistische Effekte der begleitenden Pyrone, der Flavokawine und des ätherischen Öls zustande.

Auch bezüglich der Wirksamkeit von Enolid- und Dienolidstruktur bestehen Parallelen zwischen pharmakologischen und antifungalen Befunden: Die Dienolidstruktur der Verbindungen vom Yangonintyp ist in beiden Fällen nur sehr wenig oder gar nicht wirksam. Auffällige Unterschiede bestehen jedoch bei den dioxymethylensubstituierten Pyronen: Methysticin und DHM, die in den pharmakologischen Tests sehr aktiv waren, erwiesen sich in den Fungistase-Versuchen als unwirksam.

Besonders hervorzuheben ist die bemerkenswerte Strukturspezifität der antimyzetischen Wirkung innerhalb der untersuchten Stoffgruppe: Bereits in der Droge finden wir Verbindungen, die Varianten des Kawalacton-Grundgerüstes darstellen. Von den 9 bisher isolierten, bzw. nachgewiesenen Pyronen ist jedoch einzig das DHK in der Lage, das Pilzwachstum bei Aspergillus niger vollständig zu unterdrücken. Geringfügige Strukturveränderungen des DHK-Grundmusters (z. B. Einführung von Doppelbindungen in Kette oder Pyronring, Einführung von Substituenten am

Phenylring sowie Verlängerung und Verkürzung der Kette zwischen beiden Ringen) hatten sofort ein Absinken der fungistatischen Wirkung zur Folge.

Immerhin führt die Substitution des Phenylringes mit einer hydrophilen Gruppe, wie beim 11-Amino-DHK sowie die Verkürzung der Kette um 1 C-Atom, wie bei Substanz B, noch zu Verbindungen, die ebenfalls das Pilzwachstum vollständig unterdrücken können. Die dazu nötigen Konzentrationen liegen jedoch höher als beim DHK. Die Einführung von Doppelbindungen oder lipophilen Substituenten sowie die Verlängerung der Kette führt dagegen zu einem wesentlich stärkeren Wirkungsabfall.

Auch an anderen Lactonen, die antimikrobiell wirksam sind, kann man ähnliche strukturgebundene Wirksamkeit beobachten: Hierfür sei als weiteres Beispiel die Dehydracetsäure genannt. Nach Abspaltung ihrer Acetylgruppe in 3-Stellung verliert diese Substanz nahezu völlig ihre antimyzetische Wirksamkeit. Andererseits wird das 5, 6-Dihydromethyltriacetsäurelacton, das in unseren Versuchen keine fungistatischen Eigenschaften besaß, nach Verlust der Methoxygruppe in 4-Stellung in Form der Parasorbinsäure wieder stark toxisch gegenüber Bakterien, Pilzen und Samen höherer Pflanzen.
Auch hier bewirken bereits geringfügige Veränderungen der Grundstruktur starke Änderungen der mikrobiologischen Wirkung.
Es lassen sich demnach, zumindestens zum gegenwärtigen Zeitpunkt, bei lactonischen Verbindungen nur sehr vage Voraussagen über die Zusammenhänge zwischen antimikrobieller Aktivität und chemischer Konstitution machen. Eine Erklärung der fungistatischen Wirksamkeit des DHK-Moleküls aufgrund der Verwandtschaft seiner Molekülteile zu antifungal wirksamen Substanzen, wie z. B. der Hydrozimtsäure einerseits (GRANITS-THURNER und SCHIRMER, 1957) und der Parasorbinsäure andererseits (v. GUTTENBERG und BEYTHIEN, 1951), muß daher sehr fraglich bleiben.
Genauere Voraussagen sind wahrscheinlich erst dann möglich, wenn

man weiß, welche chemisch-physiologischen Mechanismen die antimikrobielle Aktivität der betreffenden Substanzen bedingen. Bisher ist jedoch über den Wirkungsmechanismus antibakterieller oder antimyzetischer Lactone nur wenig bekannt: Nach SEXTON (1958) soll eine Beziehung bestehen zwischen den antimikrobiellen Eigenschaften solcher Substanzen und ihrer Fähigkeit, Verbindungen mit wichtigen Thiolen einzugehen. Dies wurde geschlossen, nachdem man fand, daß zahlreiche lactonische Verbindungen wie $\Delta/\beta\gamma$-Angelicalacton, Patulin, Penicillinsäure, Parasorbinsäure etc. durch Zusatz von Cystein oder Thioglykolsäure ihre antimikrobielle Aktivität verlieren.

Entsprechende Versuche haben auch wir mit dem DHK und der Dehydracetsäure unternommen. Dabei wurde jedoch festgestellt, daß die fungistatischen Eigenschaften beider Substanzen durch Cystein oder Thioglykolsäure nicht beeinträchtigt werden, so daß ein anderer Wirkungsmechanismus sowohl für die Dehydracetsäure, als auch für das DHK angenommen werden muß.

Es bleibt festzustellen, daß im DHK eine Verbindung gefunden wurde, die starke fungistatische Eigenschaften besitzt, bei relativ geringer Allgemeintoxizität (LD_{50} Maus = 325 mg/kg i.p.; MEYER, 1962).

Bei dem starken Anwachsen der Pilzkrankheiten (NESEMANN, 1960; SCHIRREN, 1956; WILDE, 1954), verursacht durch die häufige Verwendung von Breitbandantibioticis, kommt diesem Befund eine erhebliche Bedeutung zu.
Das DHK böte, eine Wirksamkeit auch in vivo vorausgesetzt, vielleicht einen Ansatzpunkt zur Entwicklung innerlich wirksamer Fungistatica, von denen bisher nur sehr wenige zur Verfügung stehen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Das Rhizom von Piper methysticum FORST. und die bekannten, charakteristischen Inhaltsstoffe dieser Droge wurden in vitro auf antibakterielle (I) und antimyzetische (II) Eigenschaften untersucht.

(I) Von 21 Bakterienarten wurden nur 2 (Bacillus subtilis und Neisseria catarrhalis) durch das Drogenpulver schwach gehemmt. Die bekannten Inhaltsstoffe sind am hemmenden Effekt der Droge gegenüber diesen beiden Organismen nicht beteiligt.

Die Prüfung der Reinstoffe zeigte, daß einzig das Kawain in höchsten Konzentrationen geringe, bakteriostatische Wirkungen auf Escherichia coli und Staphylococcus aureus ausübt.

(II) Von 81 Pilzstämmen (darunter zahlreiche pathogene) wurden 72 durch Kawapulver im Wachstum z. T. stark gehemmt.
Die größte Empfindlichkeit zeigte der pathogene Hautpilz Trichophyton ferrugineum. Auch die ebenfalls pathogenen Arten Cryptococcus neoformans, Sporotrichum schenckii, Allescheria boydii sowie 9 weitere Trichophyton- und 5 Microsporumstämme wurden durch Kawa stark gehemmt.

Unempfindlich waren dagegen Candidaarten und Fusarium solani.

Für die Prüfung der bekannten Inhaltsstoffe aus Kawa-Kawa wurde eine neue Methode ausgearbeitet, mit deren Hilfe besonders wasserschwerlösliche Substanzen auf antimyzetische Wirksamkeit untersucht werden können.

Mit dieser Methode wurden die Reinstoffe an Aspergillus niger getestet, wobei sich das 7, 8-Dihydrokawain (DHK) als die antifungal wirksamste Verbindung erwies: Sie unterdrückte noch in einer Konzentration von 0, 5 mg/ml das Wachstum des Testpilzes vollständig. Die anderen Substanzen besaßen nur geringe oder gar keine antifungalen Eigenschaften.

Es wurde festgestellt, daß die gepulverte Droge 50-fach stärker antimyzetisch wirkt, als sich aus ihrem prozentualen Gehalt an DHK erklären läßt. Dieser Wirkungsunterschied kommt, wie experimentell nachgewiesen werden konnte, durch den hohen Dispersitätsgrad des DHK in der Droge sowie durch synergistische Effekte der begleitenden Pyrone, der Flavokawine und des ätherischen Öls zustande.

Um mögliche Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und mikrobiologischer Wirkung aufzufinden, wurden 24 synthetisch und halbsynthetisch gewonnene Derivate der genuinen Kawapyrone auf pilzhemmende Wirkung getestet. Für den gleichen Zweck wurden 4 Substanzen synthetisiert und geprüft, die sich vom DHK durch eine verlängerte bzw. verkürzte C-Brücke zwischen Phenyl- und Pyronring unterscheiden. Drei der Substanzen, das 4-Methoxy-6-benzyl-5, 6-dihydro-pyron-2, das 4-Methoxy-6-(3-phenyl-propyl)-5, 6-dihydro-pyron-2 und das 4-Methoxy-6-(4-phenyl-butyl)-5, 6-dihydro-pyron-2 sind bisher noch nicht beschrieben worden. Die Untersuchungen zeigen, daß die antimyzetische Wirkung des DHK in hohem Maße strukturspezifisch ist.

Anhand der Untersuchungsergebnisse wird, zusammen mit früher gewonnenen Kenntnissen anderer Autoren, die Ethnopharmakologie von Kawa-Kawa diskutiert, besonders im Hinblick auf die Anwendung der Droge bei Infektionen der Haut und des Urogenitaltraktes.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

BEIERSDORFF, H.U.: Zur Kenntnis der sedativen Prinzipien des Kawa-Rhizoms, Diss., F.U. Berlin, 1959

BELLAMY, L.J.: Ultrarotspektrum und chemische Konstitution, Steinkopf-Verlag, Darmstadt 1955

BOLLE, A. und MIRIMANOFF , A.: J. Pharm. Pharmacol. 2, 685(1950)

BORSCHE, W. und BLOUNT, B.R.: Ber. dtsch. chem. Ges. 63, 2418 (1930)

BORSCHE, W. und BLOUNT, B.R.: Ber. dtsch. chem. Ges. 66, 803 (1933)

BORSCHE, W. und BODENSTEIN, C.K.: Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 2515 (1929)

BORSCHE, W. und GERHARDT, M.: Ber. dtsch. chem. Ges. 47, 2902 (1914)

BORSCHE, W., MEYER, C.H. und PEITZSCH, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 2113 (1927)

BORSCHE, W. und PEITZSCH, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 360 (1929)

BORSCHE, W. und PEITZSCH, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 368(1929)

BORSCHE, W. und PEITZSCH, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. 63, 2414(1930)

BORSCHE, W. und ROTH, A.: Ber. dtsch. chem. Ges. 54, 2229 (1921)

BORSCHE, W. und WALTER, C.: Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 2112 (1927)

BRIAN, P.W., CURTIS, P.J., HEMMING, G.H. et al.: Nature 164, 534 (1949)

BRÜGGEMANN, F. und MEYER, H.J.: Arzneim.-Forsch. 13, 407 (1963)

BU' LOCK, J. D. und SMITH, H. G.: J. chem. Soc. (London) 1960, 502

COOK, J. (1784): Gesamtausgabe seiner Schriften in KERR, R.: A General History of Voyages and Travels, Bde. 12-16, Edinburgh 1811

CUZENT, G. (1939/40): zit. n. TITCOMB, M. (1948)

DMS UV-Atlas of Organic Compounds; Butterworths/Verlag Chemie, London/Weinheim 1966, Vol. 1, D 2/1

DUPOUY (1876): zit. n. LEJEUNE (1905)

ENGLER, A.: Syllabus der Pflanzenfamilien (herausgegeben von H. Melchior), Gebrüder Bornträger Verlag, Berlin 1964 Bd. 2, S. 174

FLOREY, H.W., CHAIN, E., HEATLEY, N.G. et al.: Antibiotics. A survey of penicillin, streptomycin and other antimicrobial substances from fungi, actinomycetes, bacteria and plants. Oxford University Press, London 1949, S. 583

FOWLER, E.M.F. und HENBEST, H.B.: J. chem. Soc. (London) 1950, 3642

FURGIUELE, A.R.: A Psychopharmacologic Investigation of Piper methysticum FORST. (Piperaceae) Diss., University of Pittsburgh, 1962

FURGIUELE, A.R., KINNARD, W.J., ACETO, M.D. et al.: Pharmacologist (1962), 153

GÄUMANN, E.: Die Pilze. Grundzüge ihrer Entwicklungsgeschichte und Morphologie, Birkhäuser Verlag, Basel 1949

GATTY, R.: Econ. Botany 10, 241 (1956)

GORDON-CUMMING, C.F.: At Home in Fiji, New York 1882

GRANITS-THURNER, J. und SCHIRMER, H.: Mykosen 1, 60 (1957)

GSTIRNER, F.: Heil- und Gewürzpflanzen 15, 42 (1933)

GUTTENBERG, H. von und BEYTHIEN, A.: Planta 40, 36 (1951)

HÄNSEL, R.: Dt. Apoth. Ztg. 104, 459 (1964)

HÄNSEL, R. und BEIERSDORFF, H.U.: Arzneim.-Forsch. 9, 581 (1959)

HÄNSEL, R., LANGHAMMER, L. und RIMPLER, H.: Arch. Pharm. 300, 157 (1967)

HÄNSEL, R., RANFT, G. und BÄHR, P.: Z. Naturforsch. 18 b, 370(1963)

HÄNSEL, R. und RIMPLER, H.: Z. analyt. Chem. 207, 270 (1965)

HÄNSEL, R., RIMPLER, H. und LANGHAMMER, L.: Z. analyt. Chem. 218, 346 (1966)

HANDY, E.S.C.H. et al.: Bernice P. Bishop Museum Bull. 126, 20(1934)

HENBEST, H.B. und JONES, E.R.H.: J. chem. Soc. (London) 1950, 3628

HOUBEN-WEYL: Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Bd. VIII (1952), S. 467 und Bd. VII/1 (1954), S. 484

JANSEN, B.C.P. (1925): zit. n. VAN VEEN (1938) b

KAPLAN, D. und KOCH, W.: Nature 209, 718 (1966)

KELLER, F. und KLOHS, M.W.: Lloydia 26, 1 (1963)

KLAPROTH, L.: Adsorptionschromatographie lipophiler Naturstoffe an Aktivkohle: Begleitpyrone im Kawa-Rhizom (Piper methysticum FORST.), Diss., F.U. Berlin, 1966

KLOHS, M.W., KELLER, F., WILLIAMS, R.E. et al.: J. Med. Pharm. Chem. 1, 95 (1959)

KÖHLER, H.: Einführung in die Methoden der pflanzlichen Antibiotikaforschung, Akademie Verlag, Berlin 1956

KORZYBSKI, T., KOWSZYK-GINDIFER, Z. und KURYŁOWICZ, W.: Antibiotics: Origin, Nature and Properties, Pergamon Press, Oxford 1967

KOSTERMANS, D.: Nature 166, 788 (1950)

KRAMLIK, E. von: Riechstoffe und Aromen 8, 312 (1958)

KRETZSCHMAR, R. und MEYER, H.J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 251, 134 (1965) a

KRETZSCHMAR, R. und MEYER, H.J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 250, 267 (1965) b

LECLERC, H.: Presse méd. 45, 164 (1937)

LEJEUNE, E.: Über die Behandlung von Gonorrhoe mit Gonosan, Diss. Med. Fak., Rostock 1905

LEWIN, L. (1886): zit. n. SCHÜBEL (1924)

LEWIN, L.: Phantastica. Die betäubenden und erregenden Genußmittel, Verlag Georg Stilke, Berlin 1927, S. 284

MADAUS, G.: Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Georg Thieme Verlag, Leipzig 1938, Bd. 3, S. 2142

MARTIN, E.L.: in Organic Reactions, Vol. I, S. 166; J. Wiley a.S. Inc., New York 1942

MAY, H.U. und MEYER, H.J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 250, 273 (1965)

MAY, H.U., MEYER, H.J. und RÁKOS, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 251, 155 (1965)

MEYER, H.J.: Arch. int. Pharmacodyn. 138, 505 (1962)

MEYER, H.J.: Arch. int. Pharmacodyn. 154, 449 (1965) a

MEYER, H.J.: Klin. Wochenschrift 43, 469 (1965) b

MEYER, H.J. und MAY, H.U.: Klin. Wochenschrift 42, 407 (1964)

MEYER, H.J. und DIERSTEIN, M.: Arzneim.-Forsch. 15, 1344 (1965)

MEYER, H.J. und KRETZSCHMAR, R.: Klin. Wochenschrift 44, 902(1966)

MEYER, H.J. und MEYER-BURG, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 245, 122 (1963)

MEYER, H.J. und MEYER-BURG, J.: Arch. int. Pharmacodyn. 150, 118 (1964)

MEYER, H.J., OBERDORF, A. und SEIFEN, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 238, 124 (1960)

MORLEY, D.C.: J. Path. Bact. 57, 379 (1945)

MORS, W.B., MAGALHÃES, M.T. und GOTTLIEB, O.R.: Aromatic Derivatives of Monocyclic α-Pyrones; in Zechmeister, L.: Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Springer Verlag, Wien 1962, Bd. 20, S. 131

MOSETTIG, E. und MOZINGO, R.: The Rosenmund Reduction of Acid Chlorides to Aldehydes; in Organic Reactions, Vol. IV, S. 362; J. Wiley a. S. Inc., New York 1948

MOURITZ, A.A.St.M. (1916): zit. n. TITCOMB, M. (1948)

MOZINGO, R.: in Organic Syntheses 26, S. 77; J. Wiley a. S. Inc., New York 1946

NAKANISHI, K.: Infrared Absorption Spectroscopy - Practical - Holden-Day Inc., San Francisco und Nankado Comp. Limited, Tokyo 1962

NESEMANN, G.: Planta medica 8, 456 (1960)

O'HARA, M.J., KINNARD, W.J. und BUCKLEY, J.P.: J. Pharm. Sci. 54, 1021 (1965)

OLBERG, H.: Arzneim.-Forsch. 8, 143 (1958)

POLEMANN, G., WEGMANN, T. und STAMMLER, A.: Klinik und Therapie der Pilzkrankheiten, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1961

RAMMELKAMP, C.H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 51, 95 (1942)

REID, E.B. und RULEY, W.R.: J. Amer. chem. Soc. 73, 1054 (1951)

Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, bearbeitet von Kliewe, H., Heicken, K., Schmidt, B. et al., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1959

ROSENMUND, K.W. und ZETZSCHE, F.: Ber. dtsch. chem Ges. 54, 425 (1921)

RUPE, H.: Liebigs Ann. Chem. 395, 118 (1912)

SAAR, H.: Münchener Med. Wochenschrift 46, 2220 (1905)

SANNÉ (1886): zit. n. LEJEUNE (1905)

SCHABINSKI, G.: Grundriß der medizinischen Mykologie, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1960

SCHINDLER, C. und SIEBERT, C.: Deutsche Med. Wochenschrift 27, 1081 (1906)

SCHIRREN, C., RIETH, H., PINGEL, H. et al.: Arch. Hyg. 140, 423 (1956)

SCHMIDT, B.: Dt. Apoth. Ztg. 98, 1089 (1958)

SCHÜBEL, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 102, 250 (1924)

SEEMANN, B.: Flora Vitiensis: Piperaceae; 1865-1873, S. 259

SEXTON, W.A.: Chemische Konstitution und biologische Wirkung, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1958

SHOOLERY, J.N.: NMR and EPR Spectroscopy, Pergamon Press, Oxford 1960

SHRINER, R.L.: The Reformatzky Reaction, Organic Reactions, Vol. I, S. 1 (1942)

SIMON, W. und CLERC, T.: Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden, Akad. Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main 1967

SOMERVILLE, L.F. und ALLEN, C.F.H.: in Organic Syntheses, Collective Vol. II, S. 81, J. Wiley a. S. Inc., New York 1943

STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie, Springer Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg 1962

STEINMETZ, E.F.: Piper methysticum (Kava), famous drug plant of the South Sea Islands, Amsterdam 1960

STOERMER, R.: Chem. Ber. 39, 2300 (1906)

SUHR, H.: Anwendungen der kernmagnetischen Resonanz in der organischen Chemie, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1965

THIERFELDER (1938): zit. n. VAN VEEN (1938) b

TITCOMB, M.: J. Polynes. Soc. 57, 105 (1948)

TRELEASE, W. und YUNCKER, T.G.: The Piperaceae of Northern South America, University of Illinois Press, Urbana 1950 Bde. 1 u. 2

VEEN, A.G. van: Proc. Kong. Akad. Wetensch. Amsterdam 41, 855 (1938) a

VEEN, A.G. van: Geneeskundig Tijdschr. Nederland, Indie 78, 1941 (1938) b

VEEN, A.G. van: Rec. trav. chim. Pays-Bas 58, 521 (1939)

VELDSTRA, H. und HAVINGA, E.: Enzymologia 11, 373 (1943/45)

VISWANATHAN, K. und SWAMINATHAN, S.: Proc. Indian. Acad. Sci. 52, 63 (1960)

WALTER, A.M. und HEILMEYER, L.: Antibiotika-Fibel, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1965, S. 16

WILDE, H.: Dermat. Wochenschrift 129, 793 (1954)

WINTER, A.G.: Madaus Jahresbericht 1952, 6, 7 (1953)

WINTER, A.G. und WILLEKE, L.: Naturwissenschaften 39, 190, 237 (1952)

WINTER, A.G. und WILLEKE, L.: Naturwissenschaften 40, 167, 247 und 489 (1953)

WINTER, A.G. und WILLEKE, L.: Naturwissenschaften 41, 337, 379 (1954)

ZÄHNER, H.: Biologie der Antibiotika, Heidelberger Taschenbücher, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1965

IX. LEBENSLAUF

Am 4. Juni 1939 wurde ich, Dietrich Bernd Weiß, als zweiter Sohn des Maschinenbauers Richard Weiß und seiner Ehefrau Martha, geb. Kühn, in Berlin geboren.

Vom September 1945 bis Oktober 1946 besuchte ich die Volksschule in Heidersbach bei Suhl in Thüringen und anschließend die 13. Grundschule in Berlin-Lichterfelde. Im Jahre 1951 trat ich in die Berliner Lilienthalschule ein und legte hier im Frühjahr 1958 die Reifeprüfung ab.

In der Gertruden-Apotheke in Berlin-Lichterfelde begann ich im gleichen Jahre meine zweijährige Praktikantenzeit, die ich im März 1960 mit der Pharmazeutischen Vorprüfung abschloß. Ab Sommersemester 1960 studierte ich an der Freien Universität Berlin Pharmazie und bestand nach 6-semestrigem Studium im April 1963 die Pharmazeutische Prüfung. Danach war ich bis Oktober 1963 als Kandidat in der Lazarus-Apotheke in Berlin-Kreuzberg tätig und studierte anschließend 2 Semester lang Hefetechnologie an der Technischen Universität Berlin.

Seit März 1964 befaßte ich mich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Hänsel, Direktor des Institutes für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin und unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. B. Schmidt, Direktor des Institutes für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Freien Universität Berlin mit der vorliegenden Dissertation.

Vom Mai 1964 bis zum März 1966 war ich am Institut für Pharmakognosie nacheinander als Wissenschaftlicher Hilfsassistent und als Wissenschaftlicher Tutor tätig. Seit April 1966 bin ich mit der Wahrung der Dienstgeschäfte eines Wissenschaftlichen Assistenten beauftragt.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich im Jahre 1964.